





NH

ROYAUME SUISSE

ZOOLOGIE

REVUE SUISSE
DE
ZOOLOGIE

1
R454
t 64
N.H.
111
REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN

Conservateur des arthropodes

et

EUGÈNE BINDER

Conservateur des invertébrés

TOME 64

GENÈVE

IMPRIMERIE ALBERT KUNDIG

—
1957

REVUE STURGE DE ZOOLOGIE

ANNALES

1891

SOCIÉTÉ ANONYME DE ZOOLOGIE

1891

ANNALES DE ZOOLOGIE

ANNALES DE ZOOLOGIE

1891

ANNALES DE ZOOLOGIE

ANNALES DE ZOOLOGIE

ANNALES DE ZOOLOGIE

ANNALES DE ZOOLOGIE

ANNALES DE ZOOLOGIE

ANNALES DE ZOOLOGIE

ANNALES DE ZOOLOGIE

ANNALES DE ZOOLOGIE

ANNALES DE

ANNALES DE

ANNALES DE ZOOLOGIE

1891

TABLE DES MATIÈRES

du Tome 64

Fascicule 1. Mars 1957.

N ^{os}		Pages
1.	Hans MATTER. Die formale Genese einer vererbten Wirbelsäulenmissbildung am Beispiel der Mutante Crooked-tail der Maus	1
2.	Robert MATTHEY. Cytologie comparée, systématique et phylogénie des <i>Microtinae</i> (<i>Rodentia-Muridae</i>). Avec 49 figures dans le texte	39
3.	Jean-Luc PERRET et Robert MERTENS. Revision du matériel herpétologique du Cameroun, étudié par A. Monard .	73
4.	Jean-Luc PERRET. Découverte de la femelle de <i>Chamaeleo quadricornis</i> Tornier et note sur les Caméléons du Cameroun. Avec 2 figures dans le texte	79
5.	Nelly BUCHER. Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Keimzellen und somatischen Zellen im Ovar von <i>Drosophila melanogaster</i> . Mit 34 Textabbildungen und 4 Tabellen	91
6.	V. AELLEN. Les Chiroptères africains du Musée zoologique de Strasbourg	189
7.	H. B. N. HYNES. Note sur les <i>Gammarus</i> de Suisse . . .	215

Fascicule 2. Mai 1957.

8.	E. MAYR. Die denkmöglichen Formen der Artentstehung .	219
9.	U. RAHM. Wichtige Faktoren bei der Attraktion von Stechmücken durch den Menschen	236
10.	H. BURLA und A. KÄLIN. Biometrischer Vergleich zweier Populationen von <i>Drosophila obscura</i>	246
11.	H. WOKER und K. WUHRMANN. Die Reaktion der Bachfauna auf Gewässervergiftungen	253
12.	Hans WACKERNAGEL. Versuch einer zeitgemässen Zootierernahrung	263

N ^{os}		Pages
13.	Anne-M. DuBois. Altérations provoquées chez le fœtus de Cobaye par l'injection d'alloxane à la femelle gravide .	268
14.	D. ROSENBUSCH-WEIHS et K. PONSE. Actions rapides et lointaines de l'hypophysectomie chez le Cobaye . . .	271
15.	O. LIBERT, R. DOVAZ et M. M. PERRET. Les métabolites de la progestérone (GBS) dans le cycle normal et après hypophysectomie chez le Cobaye	281
16.	E.-J. CHAROLLAIS. Les métabolites des androgènes (17-cétostéroïdes) au cours du cycle normal et après hypophysectomie du Cobaye femelle	288
17.	Ernst SUTTER. Radar-Beobachtungen über den Verlauf des nächtlichen Vogelzuges. Mit 4 Abbildungen . . .	294
18.	H. URSPRUNG. Untersuchungen zum Anlagemuster der weiblichen Genitalscheibe von <i>Drosophila melanogaster</i> durch UV-Strahlenstich	303
19.	H. MISLIN und H. HELFER. Erregungsleitung in der Wand der Flughautvenen (Chiroptera-Dreivenenpräparat). Mit 3 Textabbildungen	311
20.	Ernst HADORN. Über die Bildung der roten Augenpigmente von <i>Drosophila melanogaster</i> in Transplantaten	317
21.	Rudolf WEBER. Die Kathepsinaktivität im Schwanz von <i>Xenopus</i> -Larven während Wachstum und Metamorphose	326
22.	Georg BENZ. Regionale Verteilung der Kathepsinaktivität im Schwanz von gefütterten und hungernden <i>Xenopus</i> -Larven	337
23.	H.-A. GUÉNIN. Contribution à la connaissance cytologique des Scorpions: les chromosomes de <i>Pandinus imperator</i> Koch. Avec 9 figures dans le texte	349

Fascicule 3. Septembre 1957.

24.	Margarethe GIHR. Zur Entwicklung des Hechtes. Mit 63 Textfiguren	355
25.	Hermann GISIN. Sur la faune européenne des Collemboles I. Avec 13 figures dans le texte	475
26.	P. GEIER. Observations sur les parasites du Carpocapse (<i>Cydia pomonella</i> L.) près de Genève. Avec 19 figures dans le texte	497
27.	Jean-Luc PERRET. Un nouveau <i>Phrynobatrachus</i> du Cameroun. Avec 2 figures dans le texte	527
28.	F. E. LEHMANN. Die Schwanzregeneration der <i>Xenopus</i> -Larve unter dem Einfluss phasenspezifischer Hemmstoffe. Mit 2 Textabbildungen	533

N ^{os}		Pages
29.	Jean-G. BAER. Trématodes et Cestodes récoltés en Côte d'Ivoire, avec remarques sur la famille des <i>Dicrocoeliidae</i> Odhner et sur les parasites des Damans. Avec 14 figures dans le texte	547

Fascicule 4. Décembre 1957.

30.	J. BENOIT. Radiations lumineuses et activité sexuelle du Canard. Histoire d'une recherche	577
31.	R. COURRIER. Greffes et reliquats hypophysaires	589
32.	R. K. BURNS and Lucile M. BURNS. Observations on the breeding of the American opossum in Florida	595
33.	Jacques DE BEAUMONT. <i>Bembix turca</i> Dahlb. et <i>flavescens</i> Sm. (Hym. Sphecid.)	607
34.	Anne-Marie DU BOIS. L'intoxication alloxanique chez la femelle gravide de Cobaye. 3. Effets de l'alloxane sur le foie de la mère et du fœtus	625
35.	Edw. FLÜCKIGER. Der Elektrolytstoffwechsel des Diaphragma nach Adrenalektomie und seine Beeinflussung durch Corticosteroide	651
36.	L. GALLIEN. La dissociation medullo-corticale dans l'organogenèse des glandes génitales des amphibiens et le problème des gonades vestigiales chez certains vertébrés.	665
37.	Roger GUILLEMIN. Sur le rôle de la Vasopressine comme Médiateur possible de la Décharge d'ACTH	673
38.	B. BENGTSOON, Monique ETIENNE, Dora JACOBSON and A. NORGREN. Effect of extrahypophysial gonadotrophins on the mammary glands of hypophysectomized rats injected with insulin	685
39.	M.-F. JAYLE, Ph. GENET, L. PUJOL, S. VANDEL. Pouvoir cestrogène et activité lutéotrophique de différents produits de synthèse	699
40.	Robert MATTHEY. Cytologie comparée et Taxonomie des <i>Chamaeleontidae</i> (<i>Reptilia-Lacertilia</i>). Avec 30 figures dans le texte	709
41.	Evelina ORTIZ, Eva R. BROWN and Bruce E. WILEY. The relation of male hormone to phosphatase activity in the seminal vesicle of the guinea pig	733
42.	Dorothy PRICE and Dwight J. INGLE. Androgenic effects of autotransplants of adrenals in the accessory reproductive glands of adult castrated rats	743

N ^{os}		Pages
43.	Hans SELYE. Effect of sex hormones upon hypervitaminosis-A	757
44.	Georges-H. WERNER. Données récentes sur la virologie de la rougeole et de certains autres exanthèmes	763
45.	E. CHAROLLAIS, O. LIBERT, M. PERRET et D. ROSENBUSCH-WEIHS. Contribution à l'étude de la surrénalectomie du Cobaye	773
46.	L. G. HUIS IN'T VELD. Influence de la fonction endocrine du testicule sur l'excrétion de 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine chez l'Homme	789
47.	G. van WAGENEN and Miriam E. SIMPSON. Experimentally induced Ovulation in the Rhesus Monkey (<i>Macaca mulatta</i>)	807
48.	Alfred JOST. Le problème des interrelations thyroïdophysaires chez le fœtus et l'action du propylthiouracile sur la thyroïde fœtale du Rat	821

TABLE DES AUTEURS

PAR

ORDRE ALPHABÉTIQUE

	Pages
AELLEN, V. Les Chiroptères africains du Musée zoologique de Strasbourg	189
BAER, Jean-G. Trématodes et Cestodes récoltés en Côte d'Ivoire, avec remarques sur la famille des <i>Dicrocoeliidae</i> Odhner et sur les parasites des Damans. Avec 14 figures dans le texte	547
BEAUMONT, Jacques de. <i>Bembix turca</i> Dahlb. et <i>flavescens</i> Sm. (Hym. Sphecid.)	607
BENGTSOHN, B., ETIENNE, Monique, JACOBSON, Dora and NORGREN, A. Effect of extrahypophysial gonadotrophins on the mammary glands of hypophysectomized rats injected with insulin	685
BENOIT, J. Radiations lumineuses et activité sexuelle du Canard. Histoire d'une recherche	577
BENZ, Georg. Regionale Verteilung der Kathepsinaktivität im Schwanz von gefütterten und hungernden <i>Xenopus</i> -Larven	337
BUCHER, Nelly. Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Keimzellen und somatischen Zellen im Ovar von <i>Drosophila melanogaster</i> . Mit 34 Textabbildungen und 4 Tabellen.	91
BURLA, H. und KÄLIN, A. Biometrischer Vergleich zweier Populationen von <i>Drosophila obscura</i>	246
BURNS, R. K. and BURNS, Lucile M. Observations on the breeding of the American opossum in Florida	595
CHAROLLAIS, E.-J. Les métabolites des androgènes (17-cétostéroïdes) au cours du cycle normal et après hypophysectomie du Cobaye femelle	288
CHAROLLAIS, E., LIBERT, O., PERRET, M. et ROSENBUSCH-WEIHS, D. Contribution à l'étude de la surrénalectomie du Cobaye	773
COURRIER, R. Greffes et reliquats hypophysaires	589

	Pages
DuBois, Anne-M. Altérations provoquées chez le fœtus de Cobaye par l'injection d'alloxane à la femelle gravide . .	268
DuBois, Anne-Marie. L'intoxication alloxanique chez la femelle gravide de Cobaye. 3. Effets de l'alloxane sur le foie de la mère et du fœtus	625
FLÜCKIGER, Edw. Der Elektrolytstoffwechsel des Diaphragma nach Adrenalektomie und seine Beeinflussung durch Corticosteroide	651
GALLIEN, L. La dissociation medullo-corticale dans l'organogénèse des glandes génitales des amphibiens et le problème des gonades vestigiales chez certains vertébrés	665
GEIER, P. Observations sur les parasites du Carpocapse (<i>Cydia pomonella</i> L.) près de Genève. Avec 19 figures dans le texte	497
GIHR, Margarethe. Zur Entwicklung des Hechtes. Mit 63 Textfiguren	355
GISIN, Hermann. Sur la faune européenne des Collemboles I. Avec 13 figures dans le texte	475
GUÉNIN, H.-A. Contribution à la connaissance cytologique des Scorpions: les chromosomes de <i>Pandinus imperator</i> Koch. Avec 9 figures dans le texte	349
GUILLEMIN, Roger. Sur le rôle de la Vasopressine comme Médiateur possible de la Décharge d'ACTH	673
HADORN, Ernst. Über die Bildung der roten Augenpigmente von <i>Drosophila melanogaster</i> in Transplantaten	317
HUIS IN'T VELD, L. G. Influence de la fonction endocrine du testicule sur l'excrétion de 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine chez l'Homme	789
HYNES, H. B. N. Note sur les <i>Gammarus</i> de Suisse	215
JAYLE, M.-F., GENET, Ph., PUJOL, L., VANDEL, S. Pouvoir œstrogène et activité lutéotrophique de différents produits de synthèse	699
JOST, Alfred. Le problème des interrelations thyroïdohypophysaires chez le fœtus et l'action du propylthiouracile sur la thyroïde fœtale du Rat	821
LEHMANN, F. E. Die Schwanzregeneration der <i>Xenopus</i> -Larve unter dem Einfluss phasenspezifischer Hemmstoffe. Mit 2 Textabbildungen	533
LIBERT, O., DOVAZ, R. et PERRET, M. M. Les métabolites de la progestérone (GBS) dans le cycle normal et après hypophysectomie chez le Cobaye	281
MATTER, Hans. Die formale Genese einer vererbten Wirbelsäulenmissbildung am Beispiel der Mutante Crooked-tail der Maus	1

	Pages
MATTHEY, Robert. Cytologie comparée, systématique et phylogénie des <i>Microtinae</i> (<i>Rodentia-Muridae</i>). Avec 49 figures dans le texte	39
MATTHEY, Robert. Cytologie comparée et Taxonomie des <i>Chamaeleontidae</i> (<i>Reptilia-Lacertilia</i>). Avec 30 figures dans le texte	709
MAYR, E. Die denkmöglichen Formen der Artenstehung	219
MISLIN, H. und HELFER, H. Erregungsleitung in der Wand der Flughautvenen (<i>Chiroptera-Dreivenenpräparat</i>). Mit 3 Textabbildungen	311
ORTIZ, Evelina, BROWN, Eva R. and WILEY, Bruce E. The relation of male hormone to phosphatase activity in the seminal vesicle of the guinea pig	733
PERRET, Jean-Luc et MERTENS, Robert. Revision du matériel herpétologique du Cameroun, étudié par A. Monard	73
PERRET, Jean-Luc. Découverte de la femelle de <i>Chamaeleo quadricornis</i> Tornier et note sur les Caméléons du Cameroun. Avec 2 figures dans le texte	79
PERRET, Jean-Luc. Un nouveau <i>Phrynobatrachus</i> du Cameroun. Avec 2 figures dans le texte	527
PRICE, Dorothy and INGLE, Dwight J. Androgenic effects of autotransplants of adrenals in the accessory reproductive glands of adult castrated rats	743
RAHM, U. Wichtige Faktoren bei der Attraktion von Stechmücken durch den Menschen	236
ROSENBUSCH-WEIHS, D. et PONSE, K. Actions rapides et lointaines de l'hypophysectomie chez le Cobaye	271
SELYE, Hans. Effect of sex hormones upon hypervitaminosis-A	757
SUTTER, Ernst. Radar-Beobachtungen über den Verlauf des nächtlichen Vogelzuges. Mit 4 Abbildungen	294
URSPRUNG, H. Untersuchungen zum Anlagemuster der weiblichen Genitalscheibe von <i>Drosophila melanogaster</i> durch UV-Strahlenstich	303
WACKERNAGEL, Hans. Versuch einer zeitgemässen Zootierernährung	263
WAGENEN, G. van and SIMPSON, Miriam E. Experimentally induced Ovulation in the Rhesus Monkey (<i>Macaca mulatta</i>) . .	807
WEBER, Rudolf. Die Kathepsinaktivität im Schwanz von <i>Xenopus</i> Larven während Wachstum und Metamorphose	326
WERNER, Georges-H. Données récentes sur la virologie de la rougeole et de certains autres exanthèmes	763

	Pages
WOKER, H. und WUHRMANN, K. Die Reaktion der Bachfauna auf Gewässervergiftungen	253

Tome 64

Fascicule 1 (Nos 1-7)

Janvier 1957

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN

Conservateur des arthropodes

et

EUGÈNE BINDER

Conservateur des invertébrés



GENÈVE

IMPRIMERIE ALBERT KUNDIG

1957

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

Tome 64. En cours de publication.

	Pages
N° 1. Hans MATTER. Die formale Genese einer vererbten Wirbelsäulenmissbildung am Beispiel der Mutante Crooked-tail der Maus	1
N° 2. Robert MATTHEY. Cytologie comparée, systématique et phylogénie des <i>Microtinae</i> (<i>Rodentia-Muridae</i>). Avec 49 figures dans le texte	39
N° 3. Jean-Luc PERRET et Robert MERTENS. Revision du matériel herpétologique du Cameroun, étudié par A. Monard . . .	73
N° 4. Jean-Luc PERRET. Découverte de la femelle de <i>Chamaeleo quadricornis</i> Tornier et note sur les Caméléons du Cameroun. Avec 2 figures dans le texte	79
N° 5. Nelly BUCHER. Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Keimzellen und somatischen Zellen im Ovar von <i>Drosophila melanogaster</i> . Mit 34 Textabbildungen und 4 Tabellen	91
N° 6. V. AELLEN. Les Chiroptères africains du Musée zoologique de Strasbourg	189
N° 7. H. B. N. HYNES. Note sur les <i>Gammarus</i> de Suisse	215

Prix de l'abonnement :

Suisse Fr. 60.—

Union postale Fr. 65.—

(en francs suisses)

Les demandes d'abonnement doivent être adressées à la rédaction de la Revue Suisse de Zoologie, Muséum d'Histoire naturelle, Genève

Die formale Genese einer vererbten Wirbelsäulenmissbildung am Beispiel der Mutante Crooked-tail der Maus

von

Hans MATTER

EINLEITUNG

Jeder Arzt hat sich in seiner praktischen Betätigung immer wieder mit Patienten zu beschäftigen, die ihn wegen Schmerzen im Rücken aufsuchen und bei welchen Bewegungsstörungen und Formveränderungen der Wirbelsäule festzustellen sind. Eine richtige Beurteilung dieser Fälle hat entsprechende anatomische und physiologische Kenntnisse zur Voraussetzung. Es zeigte sich indessen, dass diese zum Teil sehr gering waren. Umgekehrt lagen systematische anatomische Untersuchungen der Wirbelsäule zwar vor, doch beschränkten sich diese sozusagen ausschliesslich auf den makroskopischen Bereich. Mikroskopische und vor allem embryologische Studien sind aber für das Verständnis dieses komplizierten Organs und insbesondere auch seiner Missbildungen unentbehrlich. TÖNDURY erkannte dies schon vor mehr als 15 Jahren und beschäftigte sich seither wiederholt mit der Wirbelsäulenentwicklung. Heute liegen viele eingehende Untersuchungen darüber vor, an die wir mit unserer Arbeit anschliessen möchten.

Für die Analyse der Genese menschlicher Missbildungen wirkt sich die Tatsache erschwerend aus, dass man jeweils nur in einzelne Phasen des Entwicklungsablaufes Einblick erhält. Aus diesem Grunde musste die Deutung der Missbildungen oft hypothetisch bleiben. Zudem ist beim Säuger der Weg über die experimentelle

Embryologie, etwa im Sinne von Transplantations- und Defektversuchen, wie sie z.B. an Amphibienkeimen gut durchzuführen sind, naturgemäss verschlossen. Umso wertvoller wird für die Entwicklungsphysiologie der Säuger die experimentelle Genetik, d.h. die Untersuchung genbedingter Schädigungen. Der operative Eingriff des experimentierenden Embryologen wird hier durch den Eingriff des Gens in den Entwicklungsprozess ersetzt. Da im determinativen Geschehen aller Wirbeltiere grundlegende Übereinstimmung herrscht (HOLTFRETER 1933), darf das Tierexperiment auch zur Lösung humanembryologischer Probleme herangezogen werden.

Die Maus erwies sich als für das Studium der Wirbelsäule und ihrer Missbildungen sehr geeignet. Bei ihr sind bis heute weit über ein Dutzend Faktoren bekannt, die das Wachstum und die Ausdifferenzierung des Achsenskeletts stören. Die grosse Reproduktionsfähigkeit der Maus ist für embryologische Untersuchungen zudem sehr vorteilhaft, bietet sie doch die Möglichkeit, relativ rasch sehr viele Entwicklungsstadien zu gewinnen.

MORGAN berichtete 1954 über eine neue, die untere Wirbelsäule betreffende dominante Mutation der Maus, *Crooked-tail* (Symbol *Cd*). Die Mutanten gingen aus dem Albinostamm A hervor, wurden in der 82. Filialgeneration entdeckt, nach weiteren drei Generationen dann ausgekreuzt und weiter ingezüchtet. Die Parentalgeneration des *Crooked*-Inzuchtstammes bestand aus dem Männchen A-*Cd* (F 85) und dem Weibchen t^3/t^0 .

Bei Homozygoten verhält sich *Cd* wie ein Letalfaktor. Über 50% der Tiere sterben intrauterin ab, weitere 18% gehen kurze Zeit nach der Geburt an Störungen des Zentralnervensystems („exencephaly“) zugrunde und nur ca. 28% überleben während einiger Wochen, ohne aber das fortpflanzungsfähige Alter zu erreichen. Diese Tiere sind auffallend klein („*Smalls*“) und zeigen regelmässig Wirbelmissbildungen, verkleinerte untere Schneidezähne, Mikrophthalmie und eine unregelmässige Schwanzbehaarung.

Heterozygote Tiere zeigen, wenn auch weniger gehäuft, dieselben Veränderungen der untern Wirbelsäule wie die Homozygoten, sonst aber keine Abnormitäten. Die verkürzten und mehrfach geknickten Schwänze gaben der Mutation den Namen.

Das mutierte Gen wirkt also während einer sehr langen Embryo-

nalperiode direkt oder indirekt auf die verschiedensten Organe. Dadurch zeichnet es sich gegenüber vielen andern Faktoren aus.

MORGAN berichtet in seiner Arbeit über die zur Abklärung des Vererbungsmodus angestellten Experimente, über das Verhalten der Hetero- und Homozygoten während ihres intrauterinen und postnatalen Lebens, sowie über die morphologischen Befunde seiner an grossem Material durchgeführten Skelettuntersuchungen, ohne aber auf die formale Genese der Missbildungen einzugehen.

Die Mutanten wurden dann zur weiteren embryologischen Untersuchung dem Anatomischen Institut Zürich übergeben.*

Wir stellen uns in dieser Arbeit die Aufgabe, die Formalgenese der Wirbelsäulenmissbildung von *Crooked-tail* zu untersuchen. Dabei versprochen wir uns, ein weiteres Muster einer Missbildungs-genese zu finden und unter Umständen weitere Einblicke in die Entwicklungsphysiologie der Wirbelsäule zu gewinnen.

MATERIAL UND METHODEN

Unsere *Crooked-tail* Zucht geht zurück auf die beiden Mäuse *Cd* 2732 und *Cd* 2730 (Register der Nevis Biological Station, N. Y.), die bereits die 12. Inzuchtgeneration darstellen und auf den in der Einleitung erwähnten Stamm zurückgehen. Unser Material umfasst Tiere aus der 16.—19. Filialgeneration (Bruder-Schwesterkreuzung).

Makroskopische Untersuchungen wurden von uns nur an einem kleinen Material durchgeführt, da sie lediglich als Ergänzung der Befunde von MORGAN dienen. 10 Wirbelsäulen adulter *Crooked-tail* Mäuse sowie 4 von normalen Kontrolltieren wurden mit Papain skelettiert, die einzelnen Wirbel unter der Lupe betrachtet und gezeichnet. Zur Gewinnung von Übersichtspräparaten wurden 8 *Cd*-Mäuse jeder Altersstufe aufgeheilt. Nach der Methode von DAWSON (1928) werden die Tiere in Kalilauge und Glycerin (oder in Methylbenzoat) rasch durchsichtig, wenn man Haut, Eingeweide und Fett zuerst entfernt. Die Knochen werden mit Alizarinrot angefärbt.

Die mikroskopischen Untersuchungen bilden den Hauptteil der vorliegenden Arbeit, galt es doch, eine lückenlose Reihe, vom 10-tägigen Embryo bis zum neugeborenen Tier zu gewinnen. Wir verwendeten nur heterozygote Tiere, weil sie in grosser Zahl gewonnen werden können und die gleichen Wirbelmissbildungen besitzen wie die Homozygoten. Die genaue Altersbestimmung der Keimlinge wurde ermöglicht durch regelmässige Untersuchung der Weibchen, die während einiger Stunden

* Herrn. Prof. DUNN (Columbia-Universität, New York) sei an dieser Stelle für die Überlassung der Mutante herzlich gedankt.

nach dem Deckakt einen „plug“ (Vaginalpfropf) aufweisen. Solche Tiere wurden isoliert und zu gegebener Zeit seziert, die Embryonen zuerst unter der Lupe betrachtet und gezeichnet, dann in Bouin'scher Flüssigkeit fixiert und später in vollständige Sagittal-, Horizontal- oder Querschnittserien zerlegt. Färbung mit Azan, Hämatoxylin-Eosin und z. T. mit van Gieson. 50 Keimlinge wurden auf diese Art und Weise verarbeitet. Zur Ergänzung des histologischen Befundes wurde in einem Falle eine graphische Rekonstruktion vorgenommen, in einem andern Falle ein Wachsplattenmodell hergestellt.

MAKROSKOPISCHE BEFUNDE

Beide Genotypen zeigen dieselben Wirbelmissbildungen, die sich bei Heterozygoten ($Cd/+$) auf Lenden-, Sacral- und Schwanzregion beschränken, während sie bei Homozygoten (Cd/Cd) bisweilen auch in weiter cranial gelegenen Abschnitten angetroffen werden. Hauptsächlich aber sind die Schwanzwirbel betroffen, bei Hetero- und Homozygoten ungefähr in gleicher Häufigkeit. Es resultieren verschieden starke Krümmungen des Schwanzes, wobei alle Übergänge von der eben nur angedeuteten bis zur rechtwinkligen Knickung vorkommen. Sie sind häufig mit Torsionen kombiniert, was am Verlauf der Längssehnen gut beobachtet werden kann. Ihre Zahl variiert von 0—6, die der missbildeten Wirbel kann beträchtlich höher sein, was dann zu einer starken Verkürzung des Schwanzes führt.

BESCHREIBUNG DER NORMALEN MAUSWIRBEL.

Die Maus besitzt 5, nicht selten sogar 6 Lenden-, 4 Sacral- und rund 30 Schwanzwirbel. Alle haben einen länglichen, walzenförmigen Körper. In der Lendenregion finden sich kräftige Seitenfortsätze (*Proc. costarii*), grosse Gelenk- und Dornfortsätze, sowie deutliche *Processus accessorii*. Die Wirbelbögen verbreitern sich dorsalwärts zu ansehnlichen Platten. Von den Sacralwirbeln sind drei oder alle vier mit ihren Körpern, seltener auch mit den massiven Querfortsätzen (*Proc. transversi*) zum Sacrum verschmolzen. Bögen und übrige Fortsätze sind kleiner als in der Lumbalregion. Die 5—6 vordersten Schwanzwirbel zeigen grosse, cranialwärts gerichtete Querfortsätze. Die weiter caudal anschliessenden Schwanz-

wirbel bestehen praktisch nur noch aus dem Körper, der die Form einer „Fadenspule“ hat. Die übrigen Wirbelkomponenten sind rudimentär: dorsal sitzen auf dem wulstig verdickten Vorderende zwei Höcker, die „Neuralfortsätze“. Am Hinterende

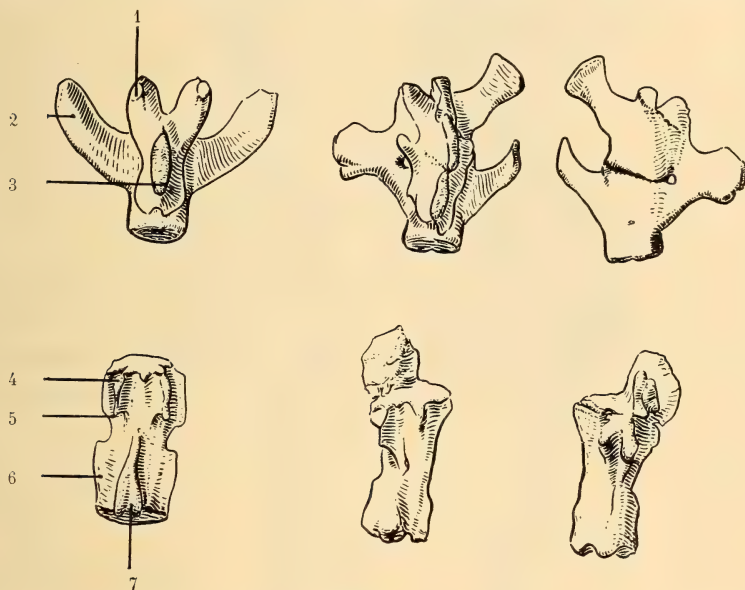


ABB. 1.

Normale und verschmolzene Wirbel von adulten Cd/+ Tieren. Obere Reihe: vordere Schwanzwirbel. Untere Reihe: mittlere Schwanzwirbel. Normale Wirbel von dorsal (a), Blockwirbel von dorsal (b) und ventral (c).

1 = vorderer Gelenkfortsatz 2 = Querfortsatz 3 = Dornfortsatz 4 = Neuralfortsatz
5 = vorderer Querfortsatz 6 = hinterer Querfortsatz 7 = Gelenkfortsatz

springen zwei ähnliche Buckel vor, die Rudimente der hintern Gelenkfortsätze (Abb. 1 a). Ventral trägt der Körper ebenfalls zwei vordere Buckel, die sog. Hämalfortsätze, die sich als niedere Leisten nach hinten ausdehnen. Jederseits besitzt er je zwei hintereinander gelegene Querfortsätze von gleicher Grösse und Form, die nur wenig seitlich ausladen (Abb. 1 a). Als Besonderheit finden wir bei der Maus in der mittleren Schwanzwirbelsäule noch Hämalbogenrudimente. Diese liegen als isolierte Kügelchen in den ventralen Sehnen direkt unter den Bandscheiben (Abb. 2).

BESCHREIBUNG DER CD-WIRBEL.

Unsere Beobachtungen ergaben dieselben Befunde, wie sie bereits MORGAN beschrieben hat. Alle betroffenen Schwanzwirbel

sind verkleinert und mehr oder weniger deformiert, was zu den erwähnten Abknickungen der Schwanzachse führt. Wir finden neben annähernd typischen Keil-Halbwirbeln auch solche, die nur noch als kleine Knochenstückchen erscheinen, an welchen sich keine Wirbelfortsätze mehr unterscheiden lassen. Sie sind häufig untereinander oder mit nahezu normalen Nachbarwirbeln zu Blöcken verschmolzen. Im proximalen Schwanzabschnitt beteiligen sich oft auch die Fortsätze und Bogenhälften einer Seite an der Blockbildung (Abb. 1 b, 1 c). Die verkleinerten und missgestalteten Wirbel können auch in Gruppen vorkommen. Nicht allzu selten sind einzelne auch stark seitwärts verschoben. In der Lumbosacral-region finden wir ebenfalls verkleinerte, verschobene und verschmolzene Wirbel, die häufig irgendwelche Veränderungen der Bögen und Fortsätze aufweisen. Bei der Maus *Cd/+126* (F 16) sind mehrere Missbildungsformen kombiniert. Einige Wirbelkörper scheinen ihre Verknöcherung von zwei oder mehr getrennten Knochenkernen aus eingeleitet zu haben. Die Seitenfortsätze sind deformiert, bei den vordersten zwei Sacralwirbeln zudem verschmolzen. Der dritte Lendenwirbel ist ein keilförmiger Halbwirbel mit nur einseitig ausgebildetem Bogen (Abb. 2).

Mit Ausnahme eines Brustwirbels mit perforiertem Bogen fanden wir keine Anomalien in der obern Wirbelsäule. MORGAN fand solche bei 9% der Hetero- und Homozygoten. Auch genotypisch normale Tiere zeigen aber in ungefähr demselben Prozentsatz Veränderungen in der Brust- und vor allem in der Halswirbelsäule.

MIKROSKOPISCHE BEFUNDE

Vor der Beschreibung unserer Befunde wollen wir kurz auf die Normalentwicklung der Mauswirbelsäule eingehen. Sie entspricht im wesentlichen derjenigen der Wirbelsäule des Menschen, wie sie vor allem von TÖNDURY und seinen Schülern beschrieben wurde. Ausführliche Studien über die Entwicklung der Mauswirbelsäule liegen ebenfalls vor (DAWES 1930, VON BOCHMANN 1936).

Bei 9 Tage alten Mausembryonen (2 mm SSL) zieht die Chorda als schmale, regelmässige, dicht gepackte Zellsäule durch die ganze Länge



ABB. 2.

Aufhellungspräparate der Lumbosacralregion (oben) und des proximalen Schwanzabschnittes (unten). 3 Monate alte Tiere. Links: normales Kontrolltier $+/+$, rechts: $Cd/+$. Verkleinerte, deformierte und teilweise verschmolzene Wirbel. Abnorme Ossifikation. H = Hämalbogen.

des Keimlings. Die mesodermale Zellmasse neben dem Neuralrohr ist durch die Intersegmentalspalten in die Somiten gegliedert, die auf Horizontalschnitten quadratisch, auf Sagittalschnitten eher rechteckig sind (Abb. 5 c). Aus ihrer verdickten medialen Wand haben sich bereits einige Sklerotomzellen losgelöst.

Mit 10 Tagen (3mm SSL) hat sich die Chorda in den vordern Körperabschnitten vom Neuralrohr distanziert, liegt ihm aber im Schwanz noch dicht an. Die Chordazellen sind rund, die Kerne zentral gelegen, das Plasma noch ohne Vakuolen. Sie werden von einer dünnen, basophilen Scheide umfasst. Die keilförmigen Sklerotome sind mit den Spitzen gegen die Chorda gerichtet.

Mit 11 Tagen (5 mm SSL) zeigt die Chorda einen welligen Verlauf. In der Segmentmitte sind die Ausbuchtungen nach ventral, im Intersegmentalgebiet nach dorsal gerichtet. Neuralrohr und Darm reichen noch bis in die Schwanzspitze. Die Sklerotome beider Seiten haben sich um die Chorda zu unpaaren, mesenchymalen Wirbelkörper- und Bandscheibenanlagen vereinigt. Sie zeigen eine Gliederung in einen dichten caudalen und einen lockeren, cranialen Abschnitt (Abb. 6). Dazwischen, etwas cranial der Segmentmitte, liegt die Intervertebralspalte. Die mesenchymalen Anlagen der Wirbelkörper, der Fortsätze und Rippen lassen sich bereits erkennen.

Wenig später, bei 12-tägigen Embryonen (ca. 7 mm SSL), wandert die Verdichtungszone cranialwärts über die Intervertebralspalte hinaus und ergreift auch einen dicht vor dieser gelegenen Streifen des cranialen Sklerotomabschnittes. Gleichzeitig wird die dichte caudale Zone von hinten her aufgelockert. Auf diese Weise verschmälert sich die Verdichtungszone und beschränkt sich schliesslich auf das Gebiet um die Intervertebralspalte, wo sie die mesenchymale Anlage der Bandscheibe bildet. Die Anlage des Wirbelkörpers setzt sich zusammen aus einem ursprünglich dichten caudalen Sklerotomabschnitt und dem lockeren cranialen Abschnitt des folgenden Segmentes.

Die Verknorpelung der Wirbelkörper hat jetzt eingesetzt, beginnt in der Brustregion und erreicht sehr rasch den Halsabschnitt. Sie unterscheidet sich im einzelnen etwas vom Verknorpelungsvorgang der menschlichen Wirbelkörper, der von zwei bilateral-symmetrischen Vorknorpelkernen ausgeht, die erst sekundär zur Bildung eines einheitlichen Kernes verschmelzen (SCHINZ und TÖNDURY). Bei der Maus finden wir vier Vorknorpelkerne. In jedem Sklerotomabschnitt treten, nahe der Wirbelkörpermitte (Segmentgrenze), zwei bilateral-symmetrische Kerne auf, die sich ventral und dorsal der Chorda rasch miteinander verbinden. Die vorknorpelige Wirbelanlage besteht dann aus zwei quer zur Längsachse gestellten Platten. Die vordere Platte, die im caudalen Sklerotomabschnitt entsteht, ist kernreicher und dunkler gefärbt als die aus dem cranialen Sklerotomabschnitt hervorgehende hintere Platte. Beide verschmelzen miteinander (Abb. 8) und wandeln sich dann zur einheitlichen Knorpelanlage um, an welcher die histologischen und färbereichen Unterschiede der aus den verschiedenen Sklerotomabschnitten hervorgegangenen Anteile nicht mehr erkennbar sind. Die Knorpelanlage vergrössert sich allmählich auf Kosten der angrenzenden Bandscheibenanlagen. Vom Wirbelkörper aus dringt der Knorpel später gegen den Bogen und die Fortsätze vor.

Mit 13 Tagen (über 8 mm SSL) hat die caudalwärts fortschreitende Verknorpelung die Lendenregion erreicht. Die Zwischenwirbelscheiben sind noch rein mesenchymal, lassen aber bereits die Trennung in Aussen- und Innenzone andeutungsweise erkennen. Die Zellen der Aussenzone sind länglich und liegen in bogenförmigen, nach aussen konvexen Linien. Eine Faserbildung lässt sich allerdings noch nicht feststellen.

Unter dem konzentrischen Wachstumsdruck des Wirbelkörperknorpels werden die Zellen des vertebralen Chordaabschnittes in die Bandscheiben gepresst, wodurch die Chordasegmente entstehen, ein Vorgang, der als Chordagliederung bezeichnet wird (Abb. 10) und mit 15 Tagen (ca. 12 mm SSL) beendet ist. Das intravertebrale Chordastück besteht nur noch aus der verdickten, zellfreien Scheide, die als Chordascheidenstrang noch lange zu sehen ist. Die zuerst kleinen, rundlichen Chordasegmente werden rasch grösser und bilden transversal gestellte Scheiben, deren Zellen vakuolisiert und zu einem Retikulum auseinandergerissen werden, dessen Lücken Schleim enthalten. Die Innenzone der Bandscheibe besteht in dieser Phase aus hyalinem Knorpel, der sich durch seine kleineren, polymorphen und in der Längsachse liegenden Zellen deutlich vom Wirbelkörperknorpel unterscheidet. Seine spärliche Zwischensubstanz färbt sich dunkler an als diejenige des Wirbelknorpels. Hand in Hand mit der Grössenzunahme des Chordasegmentes geht die weitere Ausdifferenzierung der Bandscheibenaussenzone. Bereits sind die ersten Fasern zu erkennen. Unter der Sprengkraft des Chordasegmentes entwickelt sich die Aussenzone zum Anulus fibrosus mit scheringitterartig angeordneten und zu Lamellen zusammengefassten Fasern.

Mit 17 Tagen (ca. 16 mm SSL) setzt in den Bögen der Hals- und oberen Brustwirbelsäule sowie in den Rippen die Verknöcherung ein. In den Wirbelkörpern treten zentrale Kalkknorpelkerne auf (Abb. 14). Die Chordasegmente haben sich durch Zunahme der Schleimmasse vergrössert.

Bei der neugeborenen Maus (ca. 23 mm SSL) finden wir auch in den Schwanzwirbeln grosse Kalkknorpelkerne. In der Brust- und Lumbosacralregion hat die Verknöcherung der Wirbelkörper eingesetzt: Der Kalkknorpel wird durch einsprossende Gefässe abgebaut.

Bei wenig älteren Tieren setzt auch in den Schwanzwirbelkörpern die Ossifikation ein. Wir finden eine perichondrale Knochenmanschette und einen Knochenkern mit Kalkknorpelresten, dem cranial und caudal in typischer Reihelfolge die Knorpelabbau und -zuwachszone anschliessen. Den Abschluss bilden die noch hyalinknorpeligen Endplatten, in denen später scheibenförmige Epiphysenkerne auftreten. Die Chordascheidenstränge lassen sich bis zum Knochenkern verfolgen. Die Bandscheibe besteht aus vier Anteilen: zentral liegt der flache junge Gallertkern mit den Überresten des Chordaretikulum in schleimig-gallertiger Grundsubstanz. Er nimmt zwei Drittel der Bandscheibenbreite ein. Die sich nach aussen anschliessende dünne Innenzone ist

noch rein hyalinknorpelig und gegen den Gallertkern scharf begrenzt. Eine Einschmelzung ihrer innern Abschnitte zum Gallertkern erfolgt erst später. Die Innenzone geht in eine faserknorpelige Mittelzone über. Ganz peripher folgt der Anulus fibrosus.

Im Schwanz ist die Entwicklung der Wirbelsäule gegenüber den cranialen Abschnitten 1—2 Tage im Rückstand. Dies gilt vor allem für den distalen Schwanzabschnitt, wo sich in jüngeren Stadien noch fortwährend neue Somiten herausdifferenzieren.

BEFUNDE AN CD-KEIMLINGEN.

Wir begannen unsere Untersuchungen bei ca. 10 Tage alten Cd-Keimlingen und berichten zuerst über die Befunde bei *Embryo Cd 6* (4 mm SSL/10½ Tage), der äusserlich durchaus normal aussah und in eine Längsschnittserie zerlegt wurde. Als einzigen abnormen Befund fanden wir zwei aufeinanderfolgende links-seitige Schwanzsomiten von unregelmässiger Gestalt. Wie Abb. 3

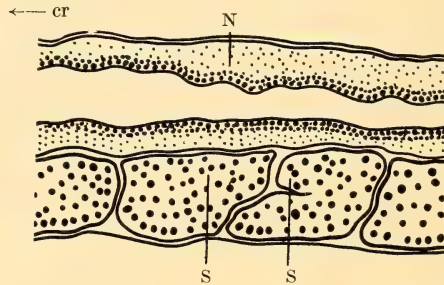


ABB. 3.

Zwei deformierte Schwanzsomiten (S). N = Neuralrohr, → cr = cranialwärts Cd/+, 10½ Tage (nach einer Photographie skizziert).

zeigt, hat die zwischen ihnen gelegene Intersegmentalspalte nicht wie normalerweise eine quere, senkrecht zum Neuralrohr gestellte Richtung, sondern zieht von lateral schräg medio-caudalwärts. Dadurch wird die mediale Seite des cranialen Somiten um fast 1/3 länger als die laterale. Der caudal anschliessende Somit erscheint infolgedessen in seinem medialen Abschnitt um den entsprechenden Betrag verkürzt. Pyknosen lassen sich keine erkennen, doch findet sich an der Vereinigungsstelle der beiden Somiten eine Mitose mit verklumpten Chromosomen.

Embryo R3 48 (8 mm SSL/12½ Tage) zeigte bei Lupenbetrachtung 20 deutlich abgrenzbare Schwanzsomiten, deren viertletzter rechts keilförmig gestaltet und mit der Spitze nach dorsal gerichtet war. Ein entsprechender Befund kann auch mikroskopisch erhoben werden. Auf Abb. 4 ist ein rechtsseitiger Parasagittalschnitt zu sehen. Man erkennt die hohen, rechteckigen, mit ihrer Längsachse senkrecht zur Schwanzachse gestellten Ursegmente, die allseitig vom epithelialen Dermatome begrenzt werden. Drei aufeinanderfolgende Somiten zeigen eine von der Norm abweichende Gestalt: Der mittlere (2) ist auf seiner ventralen Seite länger und eingekerbt, dorsal scheint er eher verschmälert zu sein. Es dürfte sich hier um den bei Lupenbeobachtung erhobenen Befund eines keilförmigen Ursegmentes handeln. Der caudal anschliessende Somite (3) zeigt ebenfalls unregelmässige Form, ist ventral verlängert und dorsal verkürzt. Hier findet sich eine Einkerbung, die den Eindruck einer caudoventralen Abschnürung eines Somitenteiles erweckt. Die

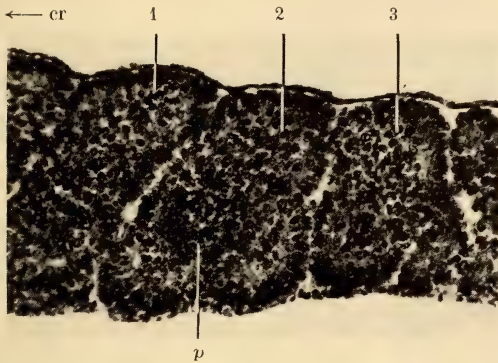


ABB. 4.

Parasagittalschnitt durch die hintere Schwanzregion. Drei deformierte Somiten mit zentralen Pyknosen (*p*). Der vorderste (1) ist von annähernd normaler Gestalt, die beiden andern (2, 3) sind ventral verlängert und eingekerbt. Cd/+, 12½ Tage.

Existenz eines zusätzlichen, rudimentären Urwirbels an der ventralen und hintern Seite des beschriebenen Somiten kann auf Grund unseres Befundes aber nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Das vorderste der drei Ursegmente (1) weist in der Mitte seines caudalen Umfanges einen Einriss und eine Auflockerung des Zellgefüges auf. Bei stärkerer Vergrösserung lassen sich im Innern

aller drei Somiten viele kleine kompakte, polymorphe und dicht gefärbte Klümpchen, wahrscheinlich Pyknosen, erkennen.

Bei *Embryo R4 50* (9,5 mm SSL/14 Tage) ist der fünftletzte linke Schwanzsomit deutlich verkleinert und keilförmig. Die Basis des Keils liegt, wie Abb. 5 erkennen lässt, in der dorsalen Schwanzmittellinie, die Spitze ventral. Im Gegensatz zu den benachbarten normal gestalteten Segmenten beschränkt er sich auf die dorsale Schwanzpartie. Auf Abb. 5 *c* ist ein Parasagittalschnitt durch die entsprechende Region dargestellt. Die letzten vier Somiten haben sich eben gebildet, sind noch klein und wenig differenziert. Die

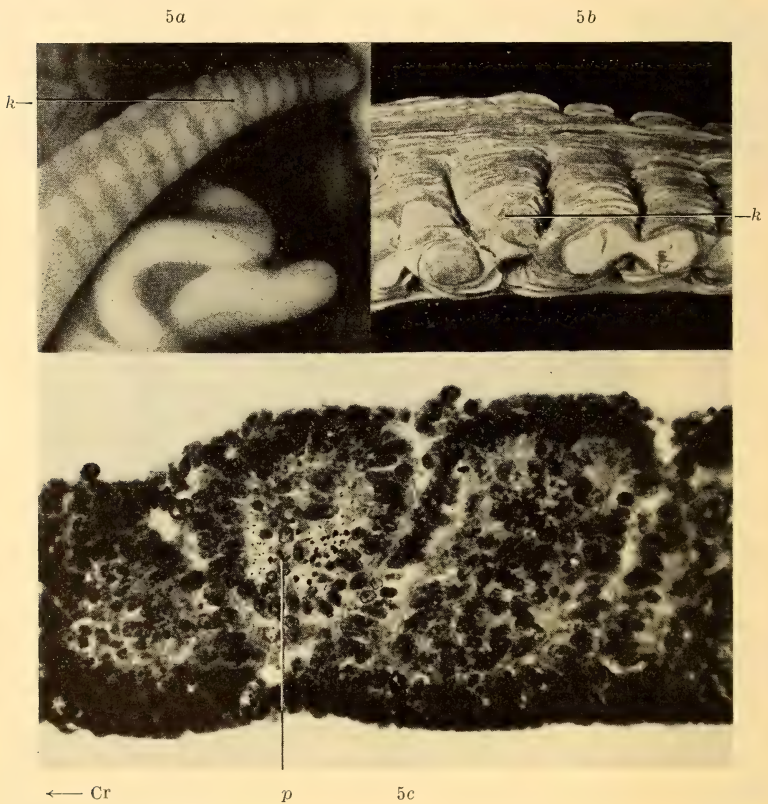


Abb. 5.

Keilförmiger distaler Schwanzsomit (*k*) bei Lupenvergrößerung (5 *a*), in der Modellrekonstruktion 5 *b*) und im Parasagittalschnitt (5 *c*). Beachte die zentralen Pyknosen (*p*). Cd/+, 14 Tage.

Zellen des Myotom haben noch keine Ähnlichkeit mit Myoblasten älterer, weiter cranial gelegener Ursegmente. Der fünfte Somit ist kleiner und wie ein Keil von dorsal her zwischen Schwanzsegment 4 und 6 hineingetrieben. Seine dorsale Basis ist gleich lang wie die dorsalen Seiten der benachbarten Somiten. Seine Spitze reicht nicht bis an die ventrale Oberfläche. Die Abgrenzung gegenüber den Nachbarsegmenten ist deutlich sichtbar. Erst weiter medial, wo sich Intersegmentalspalten- und gefässe nicht mehr durchgehend verfolgen lassen, wird sie undeutlich. Es dürfte also ausser der

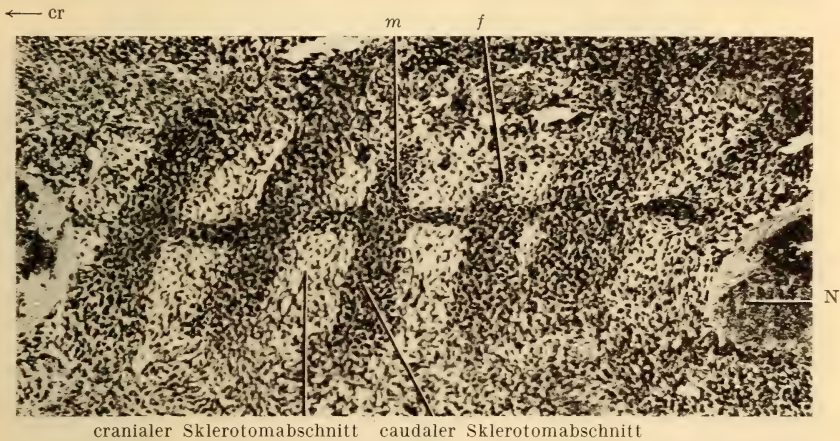


Abb. 6.

Horizontalschnitt durch die Lendenregion. Mesenchymstadium. Mangelhafte (*m*), resp. fehlende (*f*) Ausdifferenzierung von caudalen Sklerotomabschnitten. Cd/+, 11½ Tage.

Missgestaltung eine teilweise Verschmelzung, und zwar mit dem cranialen Nachbarsegment, vorliegen. Im Zentrum der drei aufeinanderfolgenden Somiten sind einige Pyknosen und verklumpte Mitosen zu sehen.

Die Lupeninspektion von *Embryo L3 49* (6,5 mm SSL/11½ Tage) ergab im Gegensatz zum vorhergehenden Fall keinen abnormen Befund. Mikroskopisch finden wir in der Lumbalregion bereits die verschieden dichten Sklerotomabschnitte, die aber über mehrere aufeinanderfolgende Segmente erhebliche Unregelmässigkeiten aufweisen. Abb. 6 zeigt einen Horizontalschnitt durch die Lumbalregion knapp ventral der Chorda. Man sieht die dichte Perichordalröhre. Cranial und caudal erkennt man die infolge der Krümmung

des Embryo quer getroffene Chorda und das Neuralrohr. Auf der rechten Seite sind zwei der caudalen, dichten Sklerotomabschnitte nur sehr mangelhaft ausdifferenziert; einer von ihnen lässt sich gegenüber den lockeren cranialen Anteilen desselben und des folgenden Segmentes überhaupt nicht abgrenzen, da er jegliche Verdichtung vermissen lässt. In den nächsten, mehr dorsal gelegenen Schnitten können diese caudalen Abschnitte wieder deutlicher erkannt werden, doch scheinen die ganzen Sklerotome, also auch deren craniale Teile, verkürzt zu sein. Zudem bleibt die Abgrenzung zwischen caudalen und cranialen Abschnitten undeutlich.

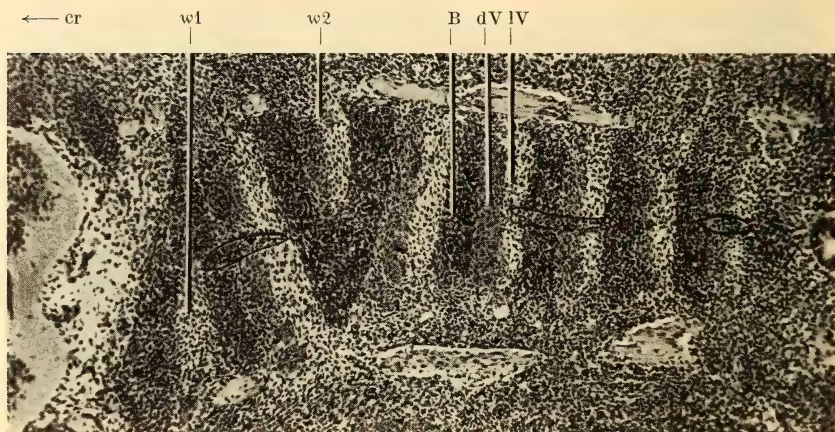


Abb. 7.

Horizontalschnitt durch die Sacralregion. Vorknorpelstadium. Die Wirbelanlagen $w1$ und $w2$ sind nur halbseitig ausgebildet. Die angrenzenden Bandschreiben sind auf der Gegenseite verschmolzen B = Bandscheibenanlage, dV = dichter Vorknorpel, IV = lockerer Vorknorpel. Cd/+, 14 Tage.

Auch bei *Fetus L2 69* (9,5 mm SSL/14 Tage) erhoben wir unter der Lupe keinen abnormen Befund. Mikroskopisch finden wir aber, wie Abb. 7 zeigt, eine Veränderung in der Sacralregion. Die Wirbelkörperanlage befindet sich im Übergang vom Mesenchym- zum Vorknorpelstadium. Die noch rein mesenchymale Verdichtungszone konzentriert sich um die Segmentmitte und entspricht in diesem Stadium der Bandscheibenanlage. Die Segmentgrenzen werden durch die Intersegmentalgefäße verdeutlicht. Auch Querschnitte durch ventrale Äste der Spinalnerven lassen sich beobachten. Sie liegen lateral der cranialen Segmentabschnitte, dicht hinter den

Intersegmentalgefässen. Eine solchermassen normale Gestaltung zeigen aber nur die hintersten der auf Abb. 7 wiedergegebenen Segmente. Vorn ist die Achsenskelettanlage rechts-konvex skoliotisch. Die Ursache dieser Skoliose ist in der abnormen Form- und Grössengestaltung vier aufeinanderfolgender Wirbel- und Bandscheibenanlagen zu suchen. Die beiden cranialen Bandscheibenanlagen sind auf ihrer rechten Seite verschmälert und verschmolzen. Sie bilden zusammen die Form eines nach links offe-

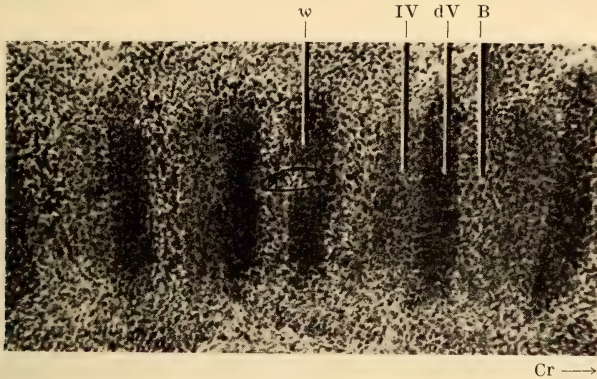


ABB. 8.

Sagittalschnitt durch die vordere Schwanzregion. Spätes Vorknorpelstadium. Wirbelanlage w ist verkürzt, es fehlt die lockere Vorknorpelplatte. B = Bandscheibenanlage, dV = dichter, IV = lockerer Vorknorpel. (Die dunkelsten Bezirke entsprechen nicht mehr Bandscheibenanlagen wie im jüngeren Stadium der Abb. 7, sondern dichtem Vorknorpel). Cd/+, 14½ Tage.

nen V. Rechts fehlt demzufolge die Wirbelanlage, d. h. der caudale Abschnitt des vordern und der craniale des hintern Segmentes sind weggefallen. Aber auch die linksseitige Hälfte ist reduziert. Der caudale Abschnitt des cranialen Segmentes, also die dichtere Zone, scheint zu fehlen. Die beiden anschliessenden Bandscheibenanlagen sind ihrerseits auf der linken Seite verschmolzen. Dementsprechend fehlt auch die linke Hälfte der dazwischengelegenen Wirbelkörperanlage, deren rechte Hälfte aber kaum reduziert ist. Die Scheitelstelle der Skoliose liegt auf Höhe dieser hintern zwei Segmente. Die Chorda dorsalis macht die Krümmung in Form einer ziemlich scharfwinkligen Abknickung mit.

Bei *Fetus L5 123* (11 mm SSL/14½ Tage) haben wir bei der Lupenuntersuchung unregelmässig gestaltete hintere Schwanzsomiten gesehen, konnten aber diese Befunde eigenartigerweise

mikroskopisch nicht bestätigen. Auf Abb. 8 ist ein Ausschnitt der Wirbelsäule in Nähe der Schwanzwurzel reproduziert. Die Wirbelkörper befinden sich im Vorknorpelstadium und zeigen die für diese Entwicklungsstufe bereits beschriebenen Verhältnisse. Zwischen den Wirbelkörperanlagen liegen die hellen mesenchymalen Bandscheiben. Von den fünf auf Abb. 8 sichtbaren Wirbelkörpern zeigt der dritte von rechts, der gerade median-sagittal getroffen ist, eine Verkürzung. Die helle, lockere Vorknorpelzone, also der craniale Abschnitt des zu dieser Wirbelkörperanlage besteuernden Segmentes scheint zu fehlen. Die dichte Vorknorpelzone wird hinten wie vorn direkt vom Bandscheiben-

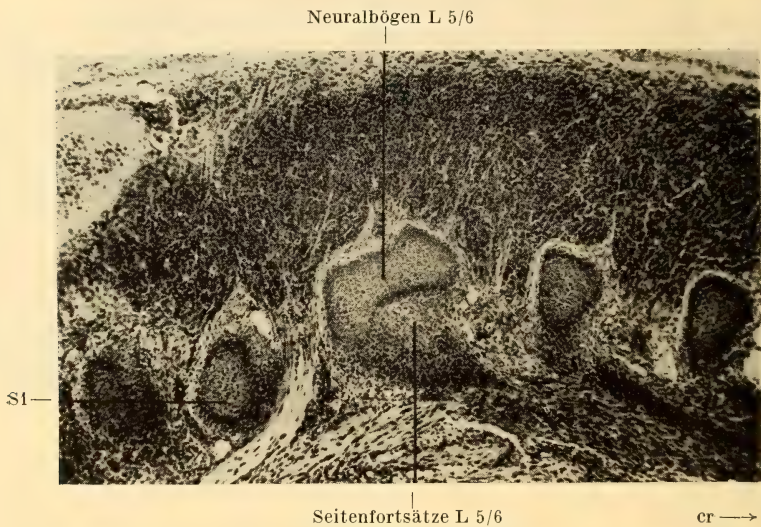


ABB. 9.

Parasagittalschnitt durch die untere Lumbalregion. Stadium des unreifen Hyalinknorpels. Cd/+, 14½ Tage.

mesenchym begrenzt, ist ihrerseits aber normal gestaltet. Pyknosen beobachten wir keine. Erst auf der linken Seite erfährt auch die dunkle Zone eine Reduktion, wenigstens in ihren ventralen Partien, sodass hier nurmehr ein plumpes, dorsal gelegenes Wirbelkörperrudiment vorliegt. Ventral liegen an Stelle der Körperanlage Mesenchymzellen, die in bogenförmigen Linien von der nächstcranialen direkt zur nächstcaudalen Wirbelkörperanlage ziehen und als stark verbreiterte Bandscheibe aufgefasst werden müssen. Auf

der rechten Seite ist die betreffende Wirbelanlage von normaler Grösse und Konfiguration.

In der untern Lumbalregion sind Wirbelkörper und -bögen schon deutlich hyalinknorpelig. Abb. 9 zeigt einen Parasagittalschnitt rechts mit quergetroffenen Neuralbögenwurzeln und angeschnittenen Seitenfortsätzen, die noch rein mesenchymal sind und ventrocraniale Richtung aufweisen. Die Bögen, sowie die Seitenfortsätze des 5. und 6. Lendenwirbels sind verschmolzen und bilden eine mehr oder weniger viereckige Platte. An den Spinalganglien fällt nichts Besonderes auf. Es fehlt aber die Wurzel des fünften Lumbalnerven, welche erst weiter medialwärts zu finden ist, wo sich auch die Verschmelzung der Wirbelbögen gelöst hat. Auf weiter medial gelegenen Schnitten lässt sich dann auch erkennen, dass der Wirbelkörper L^5 verkleinert und nach dorsal verschoben ist. Die Reduktion betrifft vor allem seinen ventralen Teil. Es resultiert daraus eine Keilform mit ventraler Spitze. Bandscheibenähnliches Gewebe verbindet ventral L^4 direkt mit L^6 . Die Chordagliederung ist im Gange, aber noch nicht vollendet. Wegen der Verkleinerung von L^5 sind die Chordasegmente cranial und caudal näher aneinandergerückt als im Bereiche normal entwickelter Wirbelsäulenabschnitte. Ausserdem enthält das intravertebrale Chordastück noch auffallend viele Zellen. Links gleichen sich Grösse und Form von L^5 an diejenigen der normalen benachbarten Wirbelkörper dieser Region wieder an. Auch Bögen und Seitenfortsätze sind frei.

Es handelt sich also um eine verkleinerte und verschobene Wirbelkörperanlage mit einseitiger Verschmelzung des Bogens mit demjenigen des caudal anschliessenden Wirbels. Die Chorda verläuft gerade, ist aber mit ihrer Gliederung im Rückstand. Dort, wo der Wirbelkörper verkleinert ist, finden wir an seiner Stelle bandscheibenähnliches Gewebe.

Bei *Fetus 109 b* (14,5 mm SSL/ca. 16 Tage) liessen sich schon makroskopisch Schwanzknickungen erkennen. Er wurde sagittal geschnitten. Die Wirbelsäule der Schwanzanlage befindet sich im Stadium des unreifen Hyalinknorpels. Die Zellen der Wirbelkörper sind noch einzeln und dicht gepackt in nur wenig Zwischensubstanz eingelagert. Die Chordagliederung ist noch nicht vollendet, die Verknorpelung der Bandscheibeninnenzone hat bereits eingesetzt. Im distalen Schwanzdrittel zeigt sich folgende Besonderheit: Auf

der linken Seite schiebt sich zwischen zwei normal gestaltete Wirbelkörper von dorsal her eine keilförmige Körperanlage ein, deren Spitze bis gegen die Mittellinie reicht. Medialwärts vergrössert sie sich nach allen Richtungen, vorerst ohne ihre Keilform zu verlieren. Schliesslich wird auch der ventrale Teil des Wirbel-

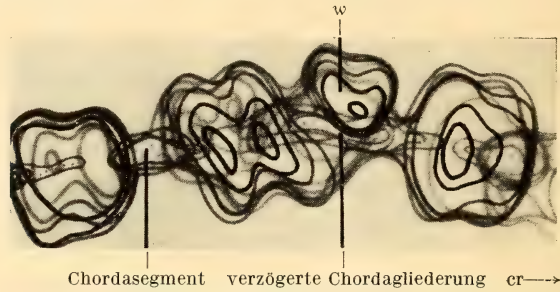


Abb. 10.

Graphische Rekonstruktion einer Sagittalschnittserie aus der mittleren Schwanzregion. Knorpelige Verschmelzung einer einseitig reduzierten Wirbelanlage (w) mit dem caudalen Nachbarwirbel. Beachte die verzögerte Gliederung der Chorda. Cd/+, 16 Tage.

körpers sichtbar. Dieser verschmilzt mit dem ventralen Abschnitt des caudal anschliessenden Körpers. Die Chorda ist im Bereich dieses deformierten Wirbels nur andeutungsweise gegliedert. An Stelle des zellarmen findet sich hier ein noch ziemlich zellreiches intravertebrales Chordastück. Umgekehrt sind die angrenzenden Chordasegmente klein. Auf der rechten Seite wird die Wirbelanlage grösser und verliert die Keilform, bleibt aber ventral in knorpeliger Verschmelzung mit dem hintern Nachbarwirbel. Dorsal bleiben beide durch die Anlage der Bandscheibenaussenzzone getrennt. Ventral hingegen ist diese nur in ihren peripheren Partien etwas angedeutet (Abb. 10).

Es handelt sich also um eine unvollständige Blockbildung zwischen einer einseitig reduzierten, keilförmigen und einer nahezu normal gestalteten knorpeligen Wirbelkörperanlage. Die Chorda zeigt im Bereich des Blockes verzögerte Gliederung, weicht aber nicht wesentlich von der Mittellinie ab.

Im proximalen Teil der Schwanzanlage desselben Keimlings können wir weitere Befunde registrieren, die kurz erwähnt sein sollen. Ausser einer Blockwirbelanlage, die ihrem Verhalten nach mit der zuletzt beschriebenen verglichen werden kann, fanden wir zwei aufeinanderfolgende abnorm gestaltete Wirbelkörper. Der

caudale der beiden ist links ganz schmal, nimmt gegen die Mitte an Grösse zu und verhält sich rechts nahezu normal, während der craniale auf seiner rechten Seite die Anlagen der Neuralfortsätze vermissen lässt (Abb. 11).

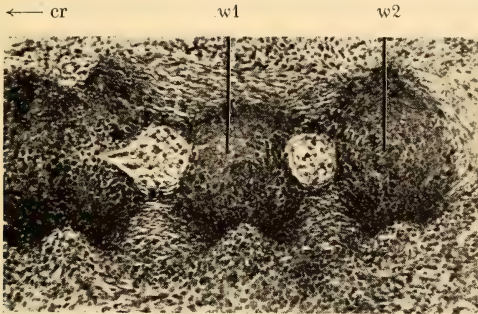


Abb. 11.

Sagittalschnitt durch den proximalen Schwanzabschnitt. Zwei verkleinerte und deformierte Wirbelanlagen (w_1 , w_2). Beginnende Gliederung der Bandscheibe in Innen- und Aussenzone. Cd/+, 16 Tage.

Eine letzte Abnormität finden wir im vordersten Abschnitt der Schwanzwirbelsäule. Hier ist der Knorpel bereits völlig reif; im Zentrum besteht er aus grossen, blasigen Zellen, an die sich cranial und caudal eine Schicht mit kleineren, abgeplatteten und konzentrisch gelagerten Zellen anschliesst. Die Chordagliederung ist abgeschlossen, die Differenzierung der Bandscheibenanlagen in faserige Aussen- und hyalinknorpelige Innenzone ganz deutlich zu sehen. Zwei hintereinandergelegene Wirbelkörper sind in ihren medianen, chordanahen Abschnitten verkürzt und lassen die erwähnte Feinstruktur des Knorpels vermissen. Die beiden zu diesem Abschnitt gehörigen Chordasegmente sind verkleinert und rundlich. In den verkürzten Wirbelkörperanlagen (W^1 , W^2) sind noch zellhaltige Chordastücke enthalten (Abb. 12). Auf Parasagittalschnitten sind diese kleinen Chordasegmente nicht mehr zu sehen, hingegen erkennt man an den entsprechenden Stellen breite knorpelige Verschmelzungen zwischen den angrenzenden Wirbelkörpern. Diese überschreiten das Mass der durch die hyalinknorpelige Innenzone gegebenen Verbindung der Wirbel. Die Anlage der Aussenzone der Bandscheibe ist um den entsprechenden Betrag verschmälert und nur ganz an der Peripherie ausgebildet.

Der untere der beiden beschriebenen Wirbel ist rechts zu einer blossen Knorpelplatte verkürzt, die caudal folgende Bandscheibe entsprechend verbreitert, aber von normaler Differenzierung.

Die unvollständige Gliederung der Chorda ist wahrscheinlich die Folge der Verkleinerung der Wirbelkörper und der mangelhaften Reifung ihres Knorpels. Die zu kleinen Chordasegmente haben wohl ihrerseits zu geringe Sprengkraft, um eine normal grosse Bandscheibenaussenzone ausdifferenzieren zu lassen. Auf diese Art und Weise kommt es zu einer, wenn auch unvollständigen Blockbildung.

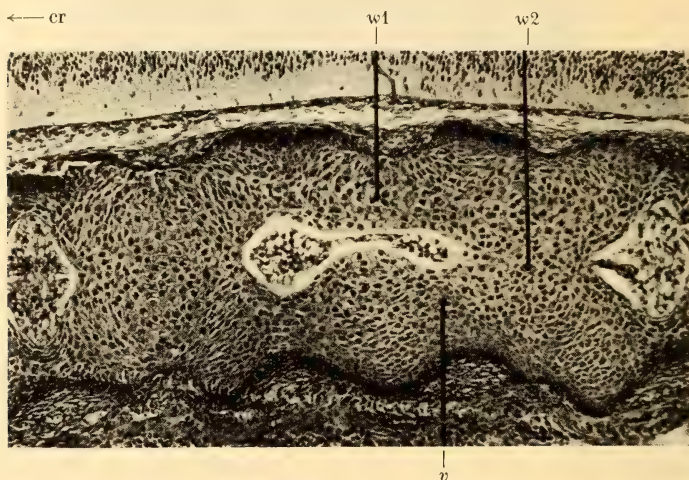


ABB. 12.

Sagittalschnitt durch die Schwanzwurzel. Stadium des reifen Hyalinknorpels. Wirbelkörper $w1$ und $w2$ sind verkürzt und breit verschmolzen (v). Chordagliederung in ihrem Bereiche unvollständig. Cd/+, 16 Tage.

Fetus L3 70 (19 mm SSL/18 Tage) zeigte makroskopisch einen scharfwinkligen Knick in der vorderen Schwanzhälfte. Die Wirbelkörper besitzen dank ihrer wulstig verdickten Enden das Aussehen von plumpen Kreuzen. Sie bestehen jetzt auch im Schwanz aus reifem Hyalinknorpel; das Zentrum ist als Vorläufer des spätern Kalkknorpelkernes grosszellig. Die Gliederung der Chorda ist abgeschlossen. In den ventralen Längssehnen können auf Höhe der Bandscheiben die kugeligen, noch unreif-hyalinknorpeligen Hämalbogenanlagen gesehen werden.

Im Bereiche der makroskopisch sichtbar gewesenen Schwanzknickung finden wir einen verschobenen, deformierten und einseitig verkleinerten Wirbel, der mit den Nachbarwirbelkörpern verschmolzen und gegenüber der Achse nach links und ventral verschoben ist. Er hat nicht die beschriebene plumpe Kreuzform, sondern ist eher halbmondförmig. Die bereits erwähnte knorpelige Verschmelzung mit den Nachbarwirbeln ist in mediansagittalen Schnitten am deutlichsten zu sehen (Abb. 13). Sie ist viel breiter als eine normale knorpelige Innenzone und unterscheidet sich auch in ihrer Feinstruktur von einer solchen. Der Wirbelkörper hat an Grösse abgenommen. Die angrenzenden Chordasegmente sind kleiner als normal, rundlich und nicht wie die übrigen scheiben-

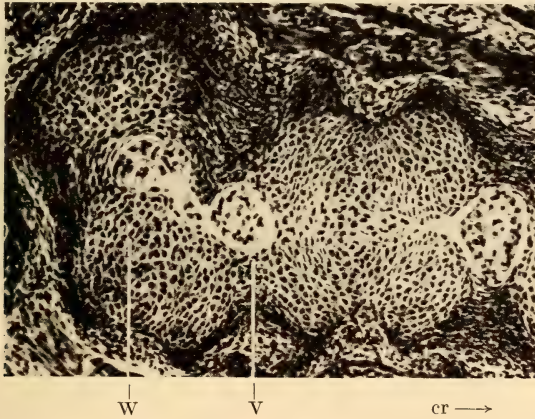


Abb. 13.

Sagittalschnitt durch den vordern Schwanzabschnitt. Die Wirbelanlage *w* ist einseitig verkleinert, ventralwärts (und seitlich) verschoben und mit dem cranialen Nachbarwirbel verschmolzen (*v*). Chordagliederung hier verzögert. Cd/+, 18 Tage.

förmig in die Transversalebene gestellt. Das kurze, noch zellhaltige Chordastück biegt etwas nach ventral aus, kommt aber nicht intra-vertebral zu liegen, sondern bleibt ganz am dorsalen Rand des rudimentären Wirbelkörpers. An seiner Stelle findet man dorsal faseriges Bandscheibengewebe. Auf der rechten Seite verschwindet er rasch und wird auch hier durch Bandscheibengewebe ersetzt.

Fetus R2 11280 (16 mm SSL/17 Tage) wurde sagittal geschnitten. Im Gegensatz zu den bereits beschriebenen Keimlingen ist hier der Schwanz normal, hingegen fanden sich in der Sacralwirbelsäule,

deren Wirbelkörper bereits zu beträchtlicher Grösse angewachsen sind und einen Kalkknorpelkern enthalten, einige Besonderheiten. Auf Abbildung 14 sind zunächst zwei ganz normal gebaute Wirbelkörper (1,2) zu sehen, die durch ebenfalls normale Bandscheiben mit dem cranial bzw. caudal folgenden Körper verbunden sind. Der dazwischen gelegene Abschnitt (3) hingegen ist abnorm: ohne Zwischenschaltung eines eigentlichen Wirbelkörpers folgen sich zwei rundliche Chordasegmente. Ventral ist eine verbreiterte Faserzone zu sehen, die die beiden Wirbel 1 und 2 miteinander

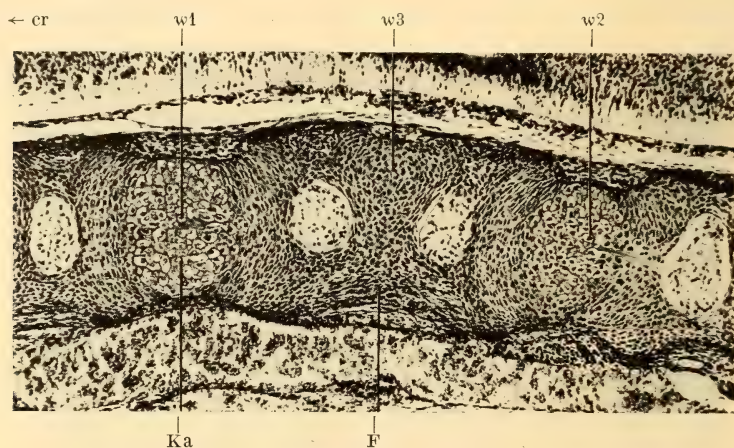


ABB. 14.

Sagittalschnitt durch die Sacralwirbelsäule, Auftreten von Kalkknorpelkernen (Ka). Der nach rechts verschobene Wirbel w3 erscheint nur als dreieckiges Rudiment. Die angrenzenden Chordasegmente sind auffallend klein. F = Faserring w1-w2. Cd/+, 17 Tage.

verbindet, während auf der dorsalen Seite eine rudimentäre Wirbelanlage wie ein Keil zwischen die beiden Chordasegmente eingetrieben ist. In diesem Bereiche fehlt die Anlage eines Faserringes. Auf den gegen medial und rechts folgenden Schnitten vergrößert sich diese rudimentäre Anlage und dehnt sich auch gegen ventral aus. Dadurch wird die beschriebene Bandscheibenverbindung zwischen den Wirbeln 1 und 2 unterbrochen. Cranial und caudal ist die Wirbelanlage 3 durch normal gestaltete Bandscheiben mit ihren Nachbarwirbeln (1, 2) verbunden. Auf ganz rechts parasagittal gelegenen Schnitten findet man diese Anlage 3 als normal geformten und strukturierten Wirbelkörper. Dabei wird deutlich, dass er gegenüber den andern Wirbeln nach rechts verschoben ist. Neural-

bögen und Fortsätze sind mit Ausnahme des linken Seitenfortsatzes beidseits gut ausgebildet.

Es handelt sich um einen seitlich verschobenen Wirbel, der zudem einseitig verkleinert und missgestaltet ist.

Bei der *neugeborenen Maus* („b“) war der Schwanz in seinem proximalen Teil geknickt. Die Wirbelkörper enthalten jetzt bis hinunter zum zweiten Schwanzwirbel Knochenkerne, die nach hinten folgenden befinden sich erst im Stadium der Kalkknorpelbildung. Der Chordascheidenstrang ist noch gut sichtbar.

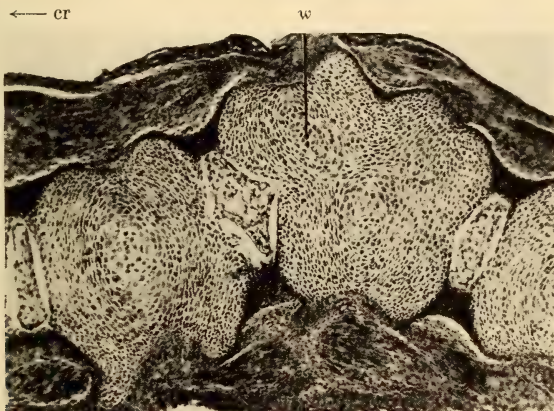


Abb. 15.

Horizontalschnitt durch den proximalen Schwanzabschnitt. Blockbildung zwischen dem Halbwirbel *w* und dem caudal benachbarten Wirbel. Beachte die Verschmelzung der Kalkknorpelkerne. Cd/+, neugeb. Maus.

Die der Schwanzabknickung zugrunde liegende Anomalie betrifft den 7. und 8. Schwanzwirbel. Die bereits auf dorsal gelegenen Horizontalschnitten sichtbare spitzwinklige, rechtskonvexe Krümmung wird durch einen abnorm grossen und deformierten Wirbel hervorgerufen, der nicht die regelmässige „Fadenspulenform“, sondern eher rhomboide Keilform aufweist. Seine linke Seite ist von normaler Länge und Gestalt, während die rechte fast um das Doppelte verlängert und in der Mitte abgeknickt ist. Sie besitzt vier statt nur zwei seitliche Vorsprünge. Durch diese einseitige Verlängerung erfährt der Wirbel und damit der ganze Schwanz eine Abknickung. Die Endflächen und somit auch die an und für sich normal gebauten angrenzenden Bandscheiben stehen

in einem Winkel von ca. 60° zueinander. Der abnorm gestaltete „Wirbelkörper“ stellt sich als Verschmelzungsprodukt zwischen einem normalen und einem nur unvollständig, halbseitig ausgebildeten Körper heraus. Dieser ist rechts und dorsal mit der cranialen Endfläche des normal gestalteten Wirbels verbunden, wobei auch die Kalkknorpelkerne der an der Blockbildung beteiligten Partner verschmolzen sind. Von den bereits erwähnten vier seitlichen Vorwölbungen gehören die vorderen zwei dem rudi-

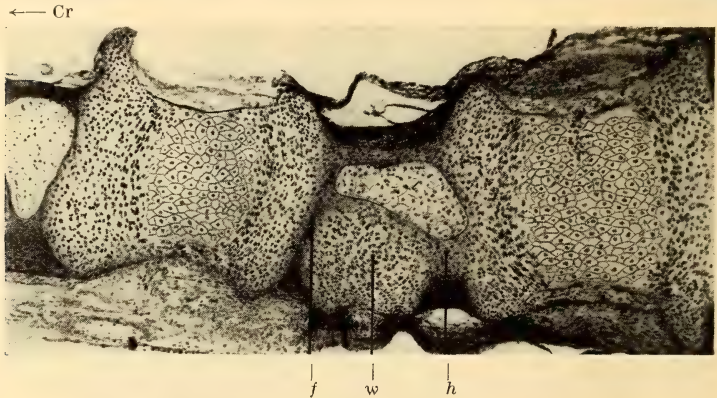


ABB. 16.

Sagittalschnitt durch den vorderen Abschnitt der Schwanzwirbelsäule. Der verkleinerte Wirbel *w* zeigt teils faserknorpelige (*f*), teils hyalinknorpelige (*h*) Verschmelzung mit den benachbarten Wirbeln. Er besitzt zwei bilateralsymmetrische Kalkknorpelkerne, die auf dem Medianschnitt nicht sichtbar sind. Abnorm geformter Gallertkern. Cd/+, 3-tägige Maus.

mentären Wirbel an (Abb. 15). Die Chordascheide zieht in typischer Weise gestreckt mitten durch den hintern Wirbelkörper, um dann an der Verschmelzungsstelle eine scharfe Knickung zu erfahren. Hier ist sie leicht aufgebläht, enthält aber keine Zellen; schliesslich zieht sie links vom Halbwirbel, ohne in diesen einzudringen, gegen das cranial anschliessende Chordasegment. Ventral der Chorda gibt der Wirbel seine Verschmelzung mit dem hintern Partner auf und nimmt dann rasch an Grösse ab. An Stelle der Knorpelbrücke finden wir hier fibrilläres Bandscheibengewebe.

Wir haben also eine partielle Blockbildung zwischen einem normalen und einem nur knapp halbseitig angelegten Wirbel. Die Chorda zieht mitten durch den Block und zeigt keine Verlaufsabweichung gegen die Seite des Halbwirbels.

Zur Ergänzung wurden noch zwei weitere, um einige Tage ältere Tiere, die makroskopisch die typischen Schwanzknickungen aufwiesen, histologisch untersucht.



ABB. 17.

Sagittalschnittserie (a-e) durch die Sacralregion. Mehrere partielle knöcherne Blockbildungen mit eingeschobenen Bandscheibenrudimenten. Knochenkerne schwarz, Knorpel punktiert, Gallertkerne weiss. Cd/+, 3-tägige Maus.

Bei der 3 Tage alten Maus (85 „b“) befinden sich die Schwanzwirbelkörper im Kalkknorpelstadium. Wir finden im proximalen Schwanzabschnitt einen verkleinerten und deformierten Wirbelkörper, der mit den benachbarten Wirbeln teils hyalin-, teils faserknorpelig verschmolzen ist. Er wird in seinem median-dorsalen

Abchnitt durch eine Bandscheibenhälfte ersetzt und gewinnt auf diese Art und Weise annähernd Hufeisenform. Ferner weist er zwei absolut getrennte, kleine bilaterale Kalkknorpelkerne auf. Abbildung 16 zeigt einen Medianschnitt durch die betreffende Region.

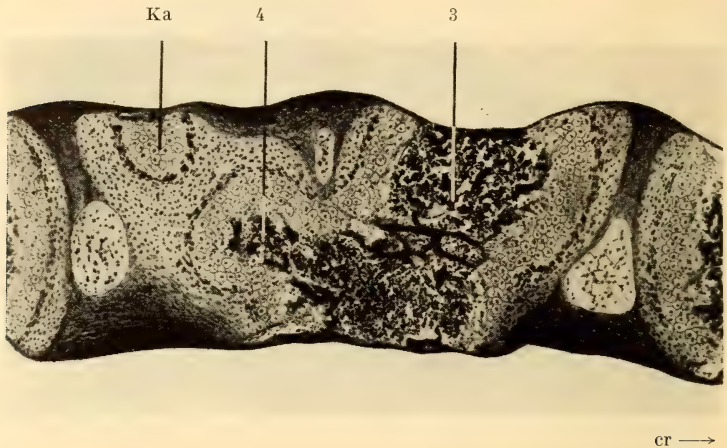


ABB. 18.

Blockwirbel 3/4 der Abb. 17 *b*. Man beachte das zusätzliche Ossifikationszentrum im Wirbelkörper 4 in Form des kleinen Kalkknorpelkernes (Ka). Schlecht differenzierte Bandscheiben mit kleinen Gallertkernen.

In der Sacralregion desselben Tieres, in welcher die Ossifikation der Wirbelkörper in vollem Gange ist, fanden wir mehrere partielle knöcherne Blockbildungen zwischen je zwei aufeinanderfolgenden Wirbelkörpern. Besser als durch eine lange Beschreibung sind die Besonderheiten aus der Abbildung 17 zu entnehmen, auf welcher fünf Sagittalschnitte dargestellt sind, die die Situation ganz besonders eindrücklich zeigen. Entsprechende Wirbel tragen dieselbe Nummer. Die Verschmelzungen sind asymmetrisch, die verschmolzenen Körper selbst haben verschiedene Gestalt und Grösse und werden stellenweise durch Bruchstücke schlecht differenzierter Bandscheiben voneinander getrennt. Die Gallertkerne sind im Bereiche der Blockwirbel klein und unterentwickelt (Abb. 18).

Bei der 6 Tage alten Maus (CD 6) erstreckt sich die Verknöcherung bis in den Schwanz. Auch in diesem Falle ist die Ursache der Schwanzabknickungen in partiellen Verschmelzungen zwischen

deformierten, verkleinerten und verschobenen Wirbelkörpern mit z.T. atypisch geformten Knochenkernen und Knorpelzonen zu suchen (Abb. 19).

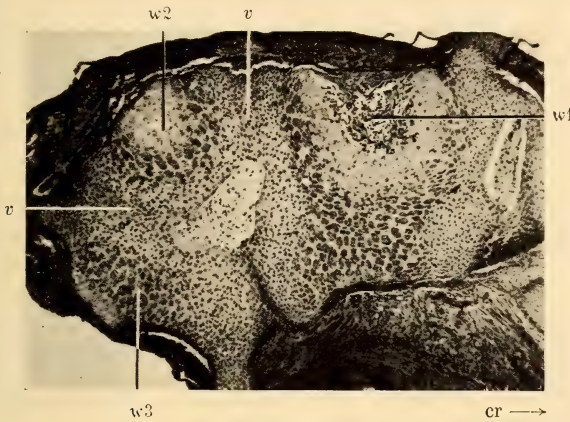


Abb. 19.

Horizontalschnitt durch den distalen Abschnitt der Schwanzwirbelsäule. Verschmelzung (v) von drei verkleinerten und verschobenen Wirbelkörpern ($w1$, $w2$, $w3$). Knochenkern seitwärts verlagert, Knorpelzonen in abnormen Bogen angeordnet. Cd/+, 6-tägige Maus.

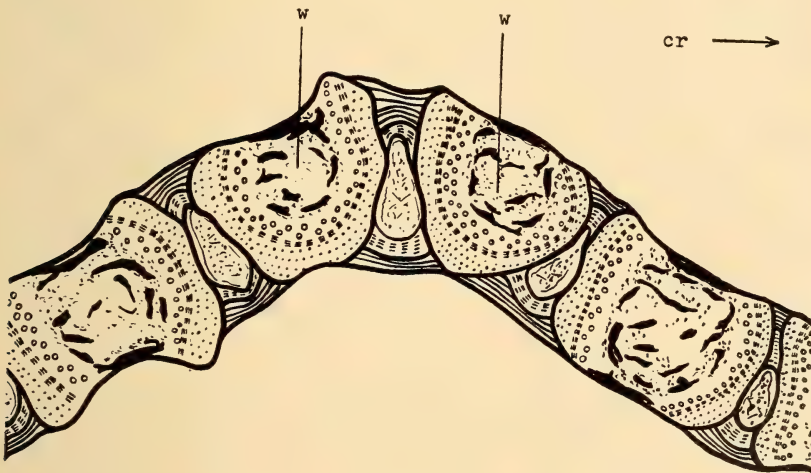


Abb. 20.

Schematische Skizze. Einseitig verkürzte Schwanzwirbel mit atypischer Anordnung von Knochenkern und Knorpelzonen. Hyaliner Knorpel = punktiert, Zellsäulenknorpel = gestrichelt, Kalkknorpel = gross punktiert, Knochenkern mit primärer Markhöhle = schwarz. Cd/+, 6-tägige Maus.

Den nur selten erhobenen Befund einer gleichseitigen Reduktion zweier, im übrigen nur wenig betroffener und nicht verschmolzener Wirbel findet sich auf Abbildung 20 dargestellt. Man erkennt die Verlagerung der kleinen Knochenkerne auf die eine Seite, sowie die abnorme bogenförmige Anordnung der Knorpelabbau- und -zuwachszone. Auch diese Veränderung führt offensichtlich zu einer Achsenknickung des Schwanzes.

DIE ENTWICKLUNG EINIGER ANDERER WIRBELSÄULENMISSBILDUNGEN DER MAUS

Bevor wir zur Diskussion der im vorangehenden Teil geschilderten Befunde schreiten, wollen wir kurz die Ergebnisse embryologischer Studien über die Wirkung anderer Faktoren auf die Entwicklung der Mauswirbelsäule anführen.

Die VON CHESLEY (1935) beschriebene Mutante *Short-tail* (*T*) zeichnet sich durch eine primäre Bildungsunfähigkeit der Chorda im caudalen Abschnitt aus. Bei Homozygoten bewirkt dies schwere Störungen der hinteren Rumpfregeion, die die Tiere am 10./11. Tag absterben lassen. Bei Heterozygoten manifestiert sich die Genwirkung am 10. Tag als Wachstumsstörung der Chorda. Diese führt zu partieller Schwanzabstossung und über gestörte Anordnung der Bandscheibenanlagen sekundär zu lumbosacralen Blockbildungen.

Der Faktor *Danforth's short-tail* (*Sd*) bedingt ebenfalls eine Schwanzverkürzung (GLUECKSOHN-SCHOENHEIMER 1945, GRÜNEBERG 1953, THEILER 1951/54). Nach anfänglich normaler Entwicklung der Schwanzknospe setzt eine Degeneration der gesamten Chorda ein, die am 11. Tag unterbrochen und teilweise verschwunden ist. Schon vor dem Chordazerfall treten in den hintersten Schwanzsomiten und ihrer Umgebung Pyknosen auf. Da normale Chordasegmente fehlen, differenzieren sich die normal angelegten Bandscheiben ungenügend. Sie entwickeln nur wenige Fasern und bleiben im übrigen hyalinknorpelig. Ferner führt der Chordazerfall indirekt zu sagittal eingekerbten (*Sd/+*) und gespaltenen (*Sd/Sd*) Wirbelkörpern im caudalen und cranialen Rumpfabschnitt. Hier trifft der Chordazerfall besonders junge Stadien der Wirbelentwicklung, und damit kann die Chorda ihre Funktion als Sammellinie für das präsumptive mesenchymale Wirbelmaterial nicht mehr ausüben. Dieses bleibt seitlich liegen, verknorpelt und verknöchert getrennt, oder es resultiert zumindest eine Reduktion der Knorpelwirbel in dorsoventraler Richtung, was zum Auftreten paariger Kalkknorpel- und Knochenkerne führt (GRÜNEBERG, THEILER).

Der Faktor *flexed-tail* (*f*) erzeugt ebenfalls Blockwirbel (KAMENOFF 1935). Trotz vorhandener Chordasegmente bilden sich in den Bandscheiben stellenweise keine Fasern. Wir sprechen von „primärer Faseraplasie“. Die Chorda zeigt leichte Krümmungen, auf deren konvexen Seiten die Faserbildung in den Bandscheibenanlagen ausbleibt. Die Phänotypen gleichen stark denjenigen von *Crooked-tail*.

Der Faktor *undulated* (*un*) beeinträchtigt direkt das Mesenchym der Wirbelsäule, des Schultergürtels und des Sternum (GRÜNEBERG 1950/54). In der Lumbalregion hemmt er die Wanderungstendenz des Wirbelblastems gegen die Mittellinie. Die Chorda wird nicht beeinflusst. Es resultieren abgeflachte Wirbelkörper, die von bilateral getrennten Zentren aus verknöchern und bisweilen ganz gespalten sind. Wie THEILER für *Sd* und GRÜNEBERG für andere Mutanten zeigen, ist das Auftreten von zwei Ossifikationszentren in den Wirbelkörpern eine direkte Folge der dorsoventralen Abplattung der Knorpelanlagen. Ferner führt die Reduktion des cranial der Intervertebralspalte gelegenen Sklerotombezirktes u. a. zu Verkürzung der Wirbelkörper um ihr distales Ende. Das Acromion, dessen mesenchymale Anlage die „zur Verknorpelung notwendige Minimalgrösse“ (GRÜNEBERG) nicht erreicht, wird durch ein Ligament ersetzt. Die Genwirkung manifestiert sich um den 11. Tag.

Der Faktor *screw-tail* (*sc*) führt über eine allgemeine Verkleinerung des Skelettmesenchym zu paarigen Knochenkernen, vorzüglich in der Lumbalregion. Es zeigt sich, dass schon die Somiten verkleinert sind. Die Genwirkung manifestiert sich um den 11. Tag. (MACDOWELL et al. 1942).

GRÜNEBERG beschrieb 1953 die Mutante *congenital hydrocephalus* (*ch*). Sozusagen das gesamte Skelettmesenchym wird um den 11. Tag reduziert. In der Folge wird die Verknorpelung und damit auch die Verknöcherung an verschiedenen Stellen verzögert oder unterdrückt. Auch hier gilt offenbar das Gesetz der zur Verknorpelung notwendigen Minimalgrösse des Mesenchym. Die Mesenchymreduktion führt zu verdoppelten Knorpelzentren in den Wirbelkörpern. Sie vereinigen sich erst spät oder überhaupt nicht. Zur Zeit der Geburt werden noch paarige Knorpelkerne gefunden. Die Chorda ist nicht gegliedert, da der Knorpelwachstumsdruck fehlt. Sacral- und Schwanzwirbel zeigen verkleinerte und undifferenzierte Seitenfortsätze. Die Homozygoten gehen kurz nach der Geburt zugrunde.

Der Faktor *tail-kinks* (*tk*) bewirkt bereits um den 10. Tag eine Reduktion des Schädel- und Wirbelmesenchym (GRÜNEBERG 1955). Die Unterteilung der Sklerotome in vordere (lockere) und hintere (dichte) Abschnitte wird gestört. Aus den reduzierten mesenchymalen Anlagen entwickeln sich verkleinerte Skelettstücke. Da stellenweise die Verknorpelung und Verknöcherung völlig unterbleibt, kann es z. B. zur Loslösung der Wirbelbögen von den Körpern kommen. In dorsoventral abgeflachten knorpeligen Wirbelkörpern treten doppelte Verknöcherungszentren auf, oder es resultieren sogar vollständig gespaltene Wirbel.

Verkleinerte, deformierte und verschobene Schwanzwirbel vervollständigen das Bild.

Für die Mutante *Bent-tail* (*Bn*) vermutete GRÜNEBERG (1955) ein mangelhaftes Auswachsen der Schwanzknospe, deren Proliferation sich vorzeitig erschöpfen soll, was sich aber erst bei der Heraussonderung der Somiten manifestiert. Diese sind verkleinert und in ihrer Zahl vermindert. Aus den verkleinerten Somiten gehen kleine mesenchymale und knorpelige Wirbel hervor; auch hier finden sich häufig doppelte Knochenkerne.

Skelettanomalien können auch durch exogene Faktoren wie mechanische, chemische und diätetische hervorgerufen werden. Interessanter sind Phänokopien genbedingter Missbildungen, die durch Bestrahlung zwischen 9. und 14. Tag der Tragzeit hervorgerufen werden (KAVEN 1938, RUSSELL 1950). Ein Maximum an Wirbelsäulenabnormalitäten ergab sich bei Bestrahlung kurz nach dem 11. Tag. Es ist dies offenbar derselbe Zeitpunkt, in welchem auch das mutierte Gen entscheidend eingreift. Die Phase der Organogenese steht ja unter grossem Einfluss des Gensatzes und unterliegt der Steuerung durch die normalen oder mutierten Allele. Innerhalb dieser Zeitspanne, die bei der Maus vom 9. bis zum 13. Embryonaltag dauert, liegen die für einzelne Organsysteme charakteristischen Phasen grössten Entwicklungstempos, die gleichzeitig Stadien maximaler Empfindlichkeit gegenüber endogenen und exogenen Schädigungen darstellen. Wir sprechen von „sensiblen Phasen“.

SYNTHESE UND DISKUSSION DER EIGENEN BEFUNDE AN CROOKED-TAIL MÄUSEN

Auch hier erwarteten wir die erste Manifestation der Störung um den 11. Tag der Embryonalentwicklung, was sich bestätigen liess. Im Gegensatz aber zu den meisten der bekannten Mutationen lässt sich die Störung nicht nur bis in das Mesenchym-, sondern bis in das Somitenstadium zurückverfolgen. Einzelne Somiten sind verkleinert, deformiert und oft nur unvollständig voneinander getrennt. Sie enthalten als Ausdruck degenerativer Vorgänge häufig Kernpyknosen (Abb. 4, 5). Zahlenmässig scheinen die Ursegmente aber nicht reduziert zu sein. Im Mesenchymstadium können einzelne Sklerotomabschnitte verkleinert sein, mangelhafte Gewebekondensation zeigen oder ganz fehlen (Abb. 6). Im Vorknorpelstadium finden wir verkleinerte oder nur halbseitig angelegte Wirbelkörper (Abb. 7, 8). Mit zunehmendem Wachstum und Reifen des Knorpels zeigen sich erstmals auch knorpelige Ver-

schmelzungen der verkleinerten, verschobenen oder deformierten Körper, in deren Bereiche die Chordagliederung deutlich im Rückstand ist (Abb. 10, 12). Die bauliche Differenzierung der betreffenden Wirbelkörper ist verzögert, der Kalkknorpelkern tritt verspätet auf. Umgekehrt können sich in den verkleinerten Körpern auch zwei vollständig getrennte Kalkknorpelkerne entwickeln. Zur Zeit der Ossifikation bilden sich aus den knorpeligen knöchernen Blockwirbel, die durch Bandscheibenrudimente mit kleinen, schlecht differenzierten Gallertkernen getrennt werden (Abb. 17, 18). Andere Wirbel sind zwar nicht verschmolzen, zeigen aber dieselben Grössen-, Form- oder Lageeigentümlichkeiten wie in den vorangehenden Entwicklungsstufen. Einzelne Körper weisen doppelte Verknöcherungszentren auf.

Allen *Crooked-tail* Wirbeln gemeinsam ist ihre Verkleinerung und Deformierung, im übrigen lassen sich rein morphologisch verschiedene Missbildungsformen voneinander abgrenzen. Die Wirbelkörper können isoliert, zu Blockwirbeln verschmolzen oder gegen die Achse verschoben sein. Häufig findet man Körper mit verdoppelten Ossifikationszentren. Wir wollen im folgenden versuchen, die den einzelnen Formen zugrunde liegenden Entstehungsmechanismen zu analysieren.

Die Schädigung einzelner oder gruppierter, hintereinander liegender Ursegmente führt zu verkleinerten mesenchymalen Wirbelanlagen der entsprechenden Seite. Oft ist der hintere, oft der vordere Sklerotomabschnitt betroffen. Im Zusammenhang mit der Neugliederung des axialen Mesenchym entsteht eine Wirbelkörperanlage aus Zellen von zwei aufeinanderfolgenden Segmenten. Wenn die einander zugekehrten Hälften von zwei geschädigten Segmenten kein skelettogenes Gewebe mehr bilden können, kommt es zur Entwicklung eines Halbwirbels. Sind aber die betroffenen Somiten nur wenig geschädigt, kommt es lediglich zu einer einseitigen Verkleinerung des Wirbels. Es resultieren schlussendlich alle Übergänge vom nur wenig verkleinerten bis zum rudimentären Wirbelkörper. Je nach dem Ausmasse der Verkleinerung wird auch die Form in Mitleidenschaft gezogen. Schliesslich vermag ein stark reduziertes Blastem auch keine typischen Bögen und Fortsätze mehr zu liefern. Grössen- und Formbeeinträchtigung der mesenchymalen Anlage projizieren sich über das knorpelige auf das definitive knöcherne Stadium. Knorpel, Kalkknorpel und Knochen

treten in den verkleinerten Körpern und Fortsätzen verspätet auf, die histologische Differenzierung ist also verzögert. Bleibt die mesenchymale Anlage eines Wirbelkörpers auf einer Seite unter der zur Verknorpelung notwendigen Minimalgrösse (vgl. *undulated, congenital hydrocephalus*), dann entwickelt sich dort das Mesenchym zu fibrösem Bindegewebe, das das Aussehen eines Faserrings annimmt und die benachbarten Bandscheiben auf dieser Seite direkt miteinander verbindet.

Die Verkleinerung der Wirbelkörperanlagen gibt auch die Erklärung für die Blockbildungen. Wachstum und Reifung des Knorpels sind die Ursache der Chordagliederung. Unter dem konzentrischen Wachstumsdruck werden die Chordazellen aus dem Wirbelkörper in die Bandscheibenanlagen gepresst und bilden hier die Chordasegmente. Bei *Cd*-Embryonen ist diese Gliederung im Bereiche verkleinerter Wirbelkörperanlagen verzögert. Der Wachstumsdruck der kleinen Knorpelkerne genügt offenbar nicht, um diese Umformung innert nützlicher Frist zu gewährleisten. Es resultieren kleine, atypisch geformte Chordasegmente, die mit entsprechend verminderter Sprengkraft auf die Aussenzone der Bandscheibenanlage wirken, was wiederum die unvollkommene oder gar fehlende Ausdifferenzierung derselben erklärt. Die Bandscheiben werden grösstenteils hyalinknorpelig, ähnlich denjenigen von *Danforth's short-tail*. Im Unterschied zu diesen können sie später verknöchern.

Die von uns beobachteten Verschiebungen betreffen immer verkleinerte Wirbel und erfolgen meistens in der Horizontalebene. Wir fragen uns, ob durch eine frühzeitige Störung schon die Wanderungstendenz der verkleinerten Sklerotome gegen die Mittellinie und ihre achsengerechte Anordnung beeinträchtigt wird. (Ein ähnlicher Mechanismus wird bei der Mutante *undulated* beschrieben.) Jedenfalls lassen sich hier die Wirbelverschiebungen nicht durch Abweichungen der Chorda nach der Seite erklären.

SCHINZ und TÖNDURY (1942) haben die Ossifikation der Wirbelkörper des Menschen beschrieben. Diese geht immer von einem unpaaren Kalkknorpelkern aus. Die Form des sich bildenden Knochenkernes ist abhängig von der Anordnung der eindringenden Gefässe, wobei vorübergehend sogar paarige Kerne vorgetäuscht werden können. Dasselbe gilt auch für die normale Ossifikation der Mauswirbel. Unter unserem Material finden wir aber Wirbelkörper

mit paarigen Ossifikationszentren, denen auch paarige Kalkknorpelkerne zugrunde liegen. Zur Erklärung dieser Befunde mag eine Beobachtung von GRÜNEBERG herangezogen werden, der in dorsoventral abgeflachten Wirbelkörpern immer paarige Verknöcherungszentren auftreten sah (vgl. *undulated*, *Danforth's short-tail*). Bei *Cd* verschmelzen die beiden Knochenkerne später, da der sie trennende Knorpel durch Knochen ersetzt wird.

Sämtliche Missbildungen der Wirbelsäule können bei *Crooked-tail* in das Somitenstadium zurückverfolgt werden und sind sekundär, als „abhängige Pleiotropie“ aufzufassen.

In der Somitenstörung erblicken wir die primäre fassbare Auswirkung des Faktors *Cd*. Aus der Tatsache, dass die Zahl der Segmente nicht verkleinert ist, schliessen wir eine primäre Schädigung der ganzen Rumpfschwanzknospe, wie sie für die Mutante *Bent-tail* beschrieben wird, aus. Wie verhält es sich aber mit der Chorda? Störungen ihrer Gliederung werden erst im Knorpelstadium der Wirbelentwicklung manifest und haben eine mangelhafte Entwicklung der Bandscheiben zur Folge. Wir haben diese Störungen als sekundär entstanden interpretiert (vgl. S. 32), müssen aber aus folgenden Überlegungen die Möglichkeit einer primären Störung der Chorda selbst immerhin in Erwägung ziehen.

Die überragende Bedeutung der Chorda für die Entwicklung des normalen sowie des pathologischen Achsenskeletts ist bekannt. Sie geht aus Untersuchungen an embryonalen Wirbelsäulen des Menschen und dem Studium und der Analyse menschlicher und tierischer Wirbelsäulenveränderungen klar hervor. TÖNDURY hat wiederholt auf diese Zusammenhänge aufmerksam gemacht (1944, 1949, 1952, 1956) und liess die Unentbehrlichkeit der Chorda auch experimentell an Amphibienkeimen zeigen (THEILER 1950). Die Chorda ist für die Heraussonderung der Somiten und damit für die Körpersegmentierung mitverantwortlich. Anschliessend wirkt sie als Sammellinie für das Wirbelsäulenmesenchym. Sie weist den Wirbel- und Bandscheibenblastemen ihren Platz an. Verlaufsabweichungen der Chorda nach der Seite können Halb- und Keilwirbelbildungen zur Folge haben. Die Knorpelbildung wird durch sie gefördert. Die druckelastischen Chordazellen, später die Chordasegmente und schliesslich die Gallertkerne sind für die normale Differenzierung und Integrität der Bandscheiben verantwortlich.

Insbesondere ist es deren Sprengkraft, die sich auf die Ausbildung des Anulus fibrosus fördernd auswirkt. Auch im Falle „primärer Faseraplasie“ dürfte die Chorda nicht ohne Bedeutung sein, scheinen doch erst abnorme Lage und Grösse des Chordasegmentes die Potenz zu dieser Störung zu realisieren (*flexed-tail*).

Bei der Mutante *Sd* treten die degenerativen Erscheinungen im Schwanz vor dem Chordazerfall auf. Trotzdem wäre es denkbar, dass die Genwirkung primär die Chorda betrifft, ohne morphologisch manifest zu werden, „... this hypothesis requires the assumption that the notochord in these animals is physiologically defective about a day earlier than has so far been established by histological methods“ (GRÜNEBERG 1953). Ein ähnlicher Mechanismus liesse sich auch für *Cd* denken; die Störung der Somiten wäre in diesem Fall ein sekundärer Effekt. Von den Homozygoten gehen 25% vor der Implantation an unbekannter Ursache, weitere 25% während der Gastrulation (mangelhafte Separierung der Keimblätter?) und 20% zur Zeit der Geburt an Schädigung des Zentralnervensystems zugrunde. Die übrigen weisen Anomalien der verschiedensten Organe auf. Der Angriffspunkt des Gens *Cd* kann also bei weitem nicht auf die Heraussonderung der Somiten beschränkt sein, zumindest nicht in homozygoter Dosis.

Unseren Befunden lassen sich ähnliche gegenüberstellen, die an Wirbelsäulen des Menschen erhoben wurden. So beschrieben TÖNDURY (1944) und THEILER (1950) die Wirbelsäule einer Frühgeburt von 45 cm SSL mit partiellen Blockwirbeln in der Lumbosacralregion. In ihrem Bereiche verläuft die Chorda abnorm, die Differenzierung der Chordasegmente ist ausgeblieben, die Bandscheiben sind nur unvollkommen ausgebildet. Es wird die Ansicht vertreten, dass eine primäre Chordastörung im Sinne abnormer Gliederung und Umbildung zuerst abnorme Bandscheiben und dann die Blockbildungen verursacht hat. Bei *Crooked-tail* finden wir denselben Entstehungsmechanismus der Blockwirbel, mit dem Unterschiede allerdings, dass hier die Chordastörung ihrerseits bereits einen sekundären, von der Verkleinerung der Wirbelanlagen abhängigen Effekt darstellt.

Auch vollständige Spaltwirbel sowie das Auftreten zweier getrennter Knochenkerne in einem einheitlichen Wirbelkörper wurden beschrieben (FELLER und STERNBERG 1929/1934, HARTMANN 1937, TÖNDURY 1939/44, EGLI 1942, HAUBENSACK 1943,

THEILER 1953). Ihre Genese harrt noch der definitiven Klärung, doch scheint sie ganz uneinheitlich zu sein. Von den verschiedenen Autoren werden mehrere, teils hypothetische Erklärungen herangezogen, wie Chordaverdoppelung, Verschmelzungshemmung paariger Verknöcherungszentren (durch SCHINZ und TÖNDURY widerlegt), Chordapersistenz (widerlegt), fehlende Rückbildung des „Septum perichordale“ im Vorknorpelstadium. Unsere Beobachtungen an *Crooked-tail* beschränken sich auf das Vorkommen getrennter Knochenkerne in einheitlichen Wirbelkörpern („Corpus vertebrae binucleare“ von HARTMANN). Sie zeigen einen Entstehungsmodus mit teratogenetischer Terminationsperiode im frühesten Stadium der Wirbelentwicklung. Verkleinerte mesenchymale Wirbelanlagen führen zu abgeflachten Knorpelwirbeln, in denen paarige Kalkknorpelkerne entstehen. Bei noch stärkerer Reduktion der mesenchymalen Anlagen besteht die Möglichkeit, dass auch die Knorpelzentren paarig bleiben. Dies hätte zur Voraussetzung, dass das dazwischengelegene Mesenchym die oben diskutierte „Minimalgrösse“ zur Verknorpelung nicht erreicht, sich zu faserigem Bindegewebe entwickelt und so die Vereinigung beider Knorpel verhindert. Auf diese Art und Weise könnte, ganz allgemein, ein echter Spaltwirbel entstehen.

Die primäre Ursache für die Bildung menschlicher Keil- und Halbwirbel wurde in einer frühzeitigen seitlichen Chordaausbiegung vermutet, für einige Fälle auch nachgewiesen (FELLER und STERNBERG 1930/34, TÖNDURY 1939/44, EGLI 1942, HAUBENSACK 1943, THEILER 1953). Unsere Beobachtungen ergeben die weitere Möglichkeit der Halbwirbelgenese über fehlende mesenchymale Wirbelanlagen bei primär intakter Chorda dorsalis.

Wirbelsäulenmissbildungen des Menschen lassen ihren Entstehungsmodus häufig nicht mehr erkennen, da man nur in einzelne Phasen der Entwicklung Einblick erhält und da verschiedene Entwicklungsstörungen dieselben Resultate zu erzeugen vermögen, was anhand zahlreicher Beispiele aus der experimentellen Genetik und Embryologie gezeigt wird. Aus diesem Grunde erlangen die Missbildungen der Maus, deren Genese wir eindeutig abklären können, grosse Bedeutung. Kritische Vergleiche mit formal-genetischen Untersuchungen an Mutanten der Maus können über die Genese einer menschlichen Missbildung mit ähnlichem Phänotypus oder eines ganzen Syndrom neue Gesichtspunkte ergeben,

wie beispielsweise die Untersuchungen TÖNDURYS über die sireni-formen Missbildungen zeigen (1944).

ZUSAMMENFASSUNG

Der dominante Faktor *Crooked-tail (Cd)* der Maus verursacht Missbildungen der Lenden-, Sacral- und Schwanzwirbelsäule, die zu Schwanzabknickungen und -verkürzung führen. Homozygot wirkt das Gen als Letalfaktor und verursacht mannigfaltige Missbildungen verschiedenster Organe.

Wir beschrieben anhand von Skelettierungs- und Aufhellungspräparaten die Wirbelmissbildungen und untersuchten ihre Formalgenese an heterozygoten Embryonen.

Wir fanden verkleinerte, deformierte Wirbel, die oft in seitlicher Richtung verschoben sind, ferner partielle Blockwirbel und unvollständige Spaltwirbel.

Die Abklärung der Morphogenese ergab, dass alle diese Missbildungsformen bis in das erste Stadium der Wirbelsäulenentwicklung zurückgeführt werden können. Die ihnen zugrunde liegende Primärstörung betrifft die Somiten, von denen einige kurz nach ihrer Heraussonderung verkleinert und deformiert sind und Pyknosen aufweisen. Die von ihnen gelieferten Wirbelblasteme sind verkleinert und deformiert, desgleichen die sich daraus entwickelnden Knorpel- und Knochenwirbel. Die Chordagliederung ist im Bereiche der betroffenen Wirbel infolge ungenügenden Wachstumsdruckes des Knorpels verzögert, was zu mangelhafter Differenzierung der Bandscheiben und auf diese Weise zu Blockwirbeln führt. Die Wirbelverschiebungen führen wir zurück auf das Unvermögen der verkleinerten Wirbelblasteme, sich achsengerecht in der Mittellinie anzuordnen, die unvollständigen Spaltwirbel auf das Auftreten doppelter Kalkknorpel- und damit Knochenkerne in dorsoventral abgeflachten Knorpelwirbeln.

Eine primäre Störung der Chorda scheint nicht vorzuliegen, kann aber umgekehrt nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Wir verglichen unsere Beobachtungen mit der Genese anderer Achsenskelettmutanten der Maus sowie mit ähnlichen Missbildungen des Menschen. Es bestätigt sich dabei einmal mehr, dass verschiedene Störungen gleichartige Schädigungen hervorrufen

können. Die Entwicklungsanalyse von Missbildungen des Tieres vermag wertvolle Aufschlüsse zu geben für die Deutung ähnlicher Fehlbildungen des Menschen, deren Genese naturgemäss nicht restlos geklärt werden kann.

LITERATUR

- V. BOCHMANN, G. 1936. *Die Entwicklung der Säugetierwirbel der hintern Körperregionen*. Morph. Jb. 79: 1-53.
- CHESLEY, P. 1935. *Development of the short-tailed mutant in the mouse*. J. Exp. Zool. 70: 429-459.
- DAWES, B. 1930. *The development of the vertebral column in mammals, as illustrated by its development in mus musculus*. Philosophic. Trans. Roy. Soc. Lond. Ser. B. 218: 115-170.
- EGLI, A. 1942. *Beitrag zur Kenntnis der Fehlbildungen am Kreuzbein*. Z. f. Anat. u. Entw. gesch. 112: 245-270.
- FELLER, A. und STERNBERG, H. 1929. *Die Wirbelkörperspalte und ihre formale Genese*. Virch. Arch. 272: 613-640.
- und STERNBERG, H. 1930. *Über vollständigen und halbseitigen Mangel von Wirbelkörpern*. Virch. Arch. 278: 566-609.
- und STERNBERG, H. 1934. *Über Fehlbildungen der Wirbelkörper bei Spaltbildungen des Zentralnervensystems und ihre formale Genese*. Z. f. Anat. u. Entw. gesch. 103: 609-633.
- GLUECKSOHN-SCHOENHEIMER, S. 1945. *The embryonic development of mutants of the Sd-strain in mice*. Genetics 30: 29-38.
- GRUENEBERG, H. *Genetical studies on the skeleton of the mouse*:
 1950. I. *Undulated and its „modifiers“*. J. Genet. 50: 142-173.
 1953 a. VI. *Danforth's short-tail*. J. Genet. 51: 317-326.
 1953 b. VII. *Congenital hydrocephalus*. J. Genet. 51: 327-358.
 1954. XII. *The development of undulated*. J. Genet. 52: 441-455.
 1955 b. XVI. *Tail-kinks*. J. Genet. 53: 536-550.
 1955 c. XVII. *Bent-tail*. J. Genet. 53: 551-562.
- HARTMANN, K. 1937. *Zur Pathologie der bilateralen Wirbelkörperfehlbildungen und zur normalen Entwicklung der Wirbelkörper*. Fortschr. Röntgenstr. 55: 531-557.
- HAUBENSAK, G. 1943. *Beitrag zur Kenntnis der Fehlbildungen der Wirbelkörper (Keil- und Spaltwirbel)*. Diss. Zürich, 32 pp.
- HOLTFRETER, J. 1933. *Einige menschliche Missbildungen im Lichte neuerer Amphibienexperimente*. S. ber. Ges. Morph. München. 42: 78-91.
- KAMENOFF, R. J. 1935. *Effects of the flexed-tail gene on the development of the house mouse*. J. Morph. 58: 117-155.
- KAVEN, A. 1938. *Röntgenmodifikationen bei Mäusen*. Z. Konstit. lehre. 22: 238-241.

- MACDOWELL, E. C., J. S. POTTER, T. LAANES and E. N. WARD. 1942. *The manifold effects of the screw tail mouse mutation. A remarkable example of „pleiotropy“ in genetically uniform material.* J. Hered. 33: 439-449.
- MORGAN, W. 1954. *A new crooked tail mutation involving distinctive pleiotropism.* J. Genet. 52: 354-373.
- PRADER, A. 1945. *Beitrag zur Kenntnis der Entwicklung der Chorda dorsalis beim Menschen.* Rev. suisse Zool. 52: 597-631.
- 1947. *Die frühembryonale Entwicklung der menschlichen Zwischenwirbelscheibe.* Acta Anat. 3: 68-83.
- 1947. *Die Entwicklung der Zwischenwirbelscheibe beim menschlichen Keimling.* Acta Anat. 3: 115-152.
- RUSSELL, L. B. 1950. *X-ray induced abnormalities in the mouse and their use in the analysis of embryological patterns. I. External and gross visceral changes.* J. Exp. Zool. 114: 545-602.
- SCHINZ, H. R. und TÖNDURY, G. 1942. *Zur Entwicklung der menschlichen Wirbelsäule: Die Frühossifikation der Wirbelkörper.* Fortschr. Röntgenstr. 66: 253-289.
- THEILER, K. 1950. *Die Auswirkung von partiellen Chordadefekten bei Triton alpestris. Beitrag zur Entwicklungsmechanik der Wirbelsäule.* Roux' Arch. Entw. mech. 144: 476-490.
- 1950. *Blockwirbelbildung bei Defekten des hintern Körperendes.* Arch. Klaus-Stiftg. 25: 343-373.
- 1951. *Die Entwicklung der Zwischenwirbelscheiben bei der Short-Danforth-Maus.* Rev. suisse Zool. 58: 484-488.
- 1953. *Beitrag zur Analyse von Wirbelkörperfehlbildungen: Experiment, Genetik und Entwicklung.* Z. Konstit. lehre. 31: 271-322.
- 1954. *Die Entstehung von Spaltwirbeln bei Danforth's short-tail Maus.* Acta Anat. 21: 259-283.
- TÖNDURY, G. 1939. *Beitrag zur Kenntnis der Fehlbildungen mit Defekten am hintern Körperende.* Z. f. Anat. u. Entw. gesch. 110: 322-343.
- 1944. *Zur Kenntnis der Fehlbildungen mit Defekten des hintern Körperendes.* Arch. Klaus-Stiftg. 19: 225-264.
- 1944. *Missbildung und Vererbung.* Arch. Klaus-Stiftg. 19: 492-509.
- 1949. *Die Bedeutung der Chorda dorsalis für die Entwicklung der Wirbelsäule.* Arch. Klaus-Stiftg. 24: 237-246.
- 1952. *Neuere Ergebnisse über die Entwicklungsphysiologie der Wirbelsäule.* Arch. orthop. Unfallchir. 45: 313-322.
- 1956. *Die Embryologie im Dienste der Krankheitsforschung.* In „Ergebnisse der Medizinischen Grundlagenforschung“ Thieme, Stuttgart. 669-736.

Cytologie comparée, systématique et phylogénie des *Microtinae* (*Rodentia-Muridae*)¹

par

Robert MATTHEY

(avec 49 figures dans le texte)

SOMMAIRE

	Pages
Introduction	40
Observations personnelles	41
1. <i>Lemmus lemmus</i> L.	41
2. <i>Phenacomys ungava</i> Merriam	43
3. <i>Microtus mexicanus</i> Saussure	45
4. <i>Chilotus oregoni</i> Bachman	46
5. <i>Ellobius lutescens</i> Th.	52
Comparaison entre les génomes d' <i>Ellobius lutescens</i> et de <i>Chilotus oregoni</i>	53
La systématique des <i>Microtinae</i>	56
Cytologie, taxonomie et évolution des <i>Microtinae</i>	57
A. <i>Lemmi</i> et <i>Microti</i>	59
B. La formule chromosomique primitive des <i>Microti</i>	60
C. Le rôle et la direction des fusions centriques	61
D. Les cas exceptionnels:	
I. <i>Microtus longicaudus</i> et <i>M. montanus</i>	62
II. <i>Chilotus oregoni</i> et <i>Ellobius lutescens</i>	64
E. La phylogénie des <i>Microtinae</i>	66
Conclusions	69
Bibliographie	70

¹ Les recherches exposées dans ce travail ont été subventionnées par le Fonds national suisse de la Recherche scientifique.

INTRODUCTION

Si, depuis 1950, j'ai poursuivi l'étude des chromosomes dans toutes les sous-familles des *Muridae* (MATTHEY, 1950, 51, 52, 53, 54, 55, 56), c'est chez les *Microtinae* que l'analyse est la plus avancée et les résultats suffisants pour que je puisse tenter de passer de l'analyse à la synthèse. Que ceci soit possible résulte de trois ordres de faits: 1) à part quelques remarquables exceptions (*Microtus montanus*, *M. longicaudus*, *Chilotus oregoni*, *Ellobius lutescens*), les processus évolutifs à l'échelle cytologique sont simples et le rôle des fusions centriques semble prépondérant; dans l'ensemble, la sous-famille est homogène alors que les formules chromosomiques sont au contraire très diversifiées; 2) l'analyse taxonomique du groupe a été poussée très loin par les systématiciens, en particulier, et dès 1926, par Martin A. C. HINTON qui, dans la partie de son livre intitulée « Interrelationships of genera » témoigne d'une justesse d'appréciation que révèle le parallèle étroit que j'établirai entre ce chef-d'œuvre d'un taxonomiste et les conclusions découlant de l'analyse chromosomique; 3) alors qu'il n'y a pas, *a priori*, de raison pour que l'évolution morphologique aille de pair avec l'évolution chromosomique, il en est pourtant ainsi chez les *Microtinae*, dont l'étude, de ce point de vue, me semble devoir occuper une position unique parmi les travaux consacrés à la cytologie comparée dans ses rapports avec la phylogénie et la taxonomie.

Je présenterai ici les formules chromosomiques de quatre espèces étudiées en 1956, puis, utilisant les données antérieurement acquises, je tenterai d'esquisser ce qu'a pu être l'histoire du groupe.

Qu'il me soit permis d'exprimer ma reconnaissance à ceux qui ont accepté de me procurer du matériel d'étude: Le Dr PETERSON (Muséum d'Ontario) a consenti au sacrifice de deux ♂♂ de *Phenacomys ungava*, espèce rare dont il élève et étudie une petite colonie. Afin d'éviter les risques inhérents à l'expédition d'animaux vivants, les préparations ont été faites à Toronto même, par miss H. Gow, assistante du professeur V. ENGELBERT (Université de Toronto). Le Dr A. HOLM (Upsala) m'a envoyé plusieurs Lemmings. Enfin, le Dr S. ANDERSON (Lawrence) m'a fait parvenir, par l'intermédiaire

de M. F. STURGESS, deux exemplaires du si intéressant *Chilotus oregoni*. Au mois de novembre 1956, le Dr ANDERSON m'a encore expédié une femelle de *Microtus mexicanus*: des préparations de la rate m'ont permis d'établir la formule chromosomique de cette espèce.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

1. *Lemmus lemmus* L.

Divisions diploïdes (fig. 1-4). — Les figures 1 et 3 sont des prométaphases spermatogoniales alors que la figure 2 se rapporte à une mitose somatique de la rate; la figure 4 est une métaphase spermatogonale typique qui démontre le caractère acrocentrique de tous les chromosomes en même temps qu'elle permet de fixer le nombre diploïde à 50. Les figures 1 et 3 confirment ce chiffre, sans aucune ambiguïté, et, en raison d'une fissuration longitudinale bien nette, l'attachement sub-terminal des éléments. Les chromosomes forment une série continue, en allant des plus grands aux plus petits, et il n'est pas possible de distinguer les constituants **X** et **Y** du complexe sexuel.

Divisions méiotiques (fig. 5-7). Il est aisé de compter 25 bivalents et l'identification des hétérochromosomes est immédiate: tous deux manifestent une légère hétérochromatie négative, vraisemblablement due, soit à un retard dans la spiralisation, soit à l'absence de cette condensation qui caractérise les tétrades autosomiques. L'**X** mesure environ 7 μ , soit deux fois plus que l'**Y**; tous deux sont acrocentriques et correspondent à mon type **III/D** (MATTHEY, 1954). La disposition de ces chromosomes sexuels parle en faveur d'une liaison au niveau de leurs extrémités proximales, mais ce mécanisme d'union doit être très fragile ou très fugace: en tout cas, il ne subsiste aucun lien matériel entre l'**X** et l'**Y** dans les métaphases I que j'ai étudiées; je ne saurais dire si cela résulte du «squashing» ou bien, ce qui semble plus probable, d'une association précocement rompue. **X** et **Y** sont fissurés longitudinalement sur toute leur longueur, les chromatides n'étant unies qu'au niveau du centromère. Chez les trois espèces étudiées ici, la séparation des hétérochromosomes s'effectue à l'anaphase I.



FIG. 1-3.

Lemmus lemmus

Fig. 1 et 3: Prométaphases spermatogoniales. — Fig. 2: Prophase diploïde dans la rate
 Feulgen. $\times 1.800$.

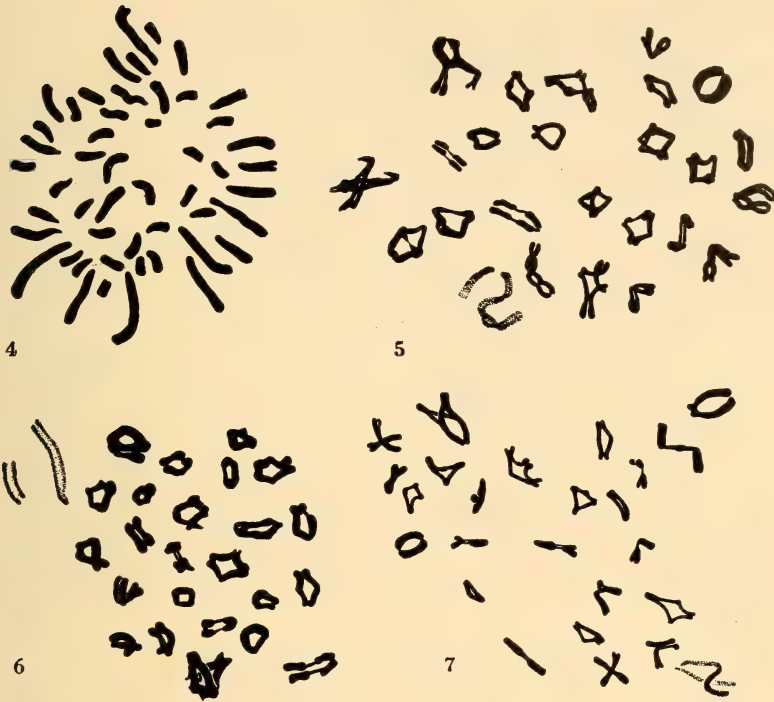


FIG. 4-7.

Lemmus lemmus

Fig. 4: Métaphase spermatogoniale. — Fig. 5-7: Métaphases I.
Feulgen. $\times 1.800$.

2. *Phenacomys ungava* Merriam.

Divisions spermatogoniales (fig. 8-9). La figure 8 se rapporte à une prophase où les chromosomes sont répartis en deux groupes (ligne pointillée). La figure 9 correspond à une prométaphase; il est aisé, en l'absence de toute superposition, de compter 56 chromosomes, acrocentriques ou sub-acrocentriques, et de noter le déclin graduel de la taille en passant d'une paire à la suivante. L'identification de l'Y est exclue, celle de l'X douteuse: les métaphases I nous montreront qu'il doit s'agir d'un élément de grande taille à bras court relativement développé.

Divisions méiotiques (fig. 10-13). La figure 10 représente un stade précoce, la figure 12 une métaphase I. Les

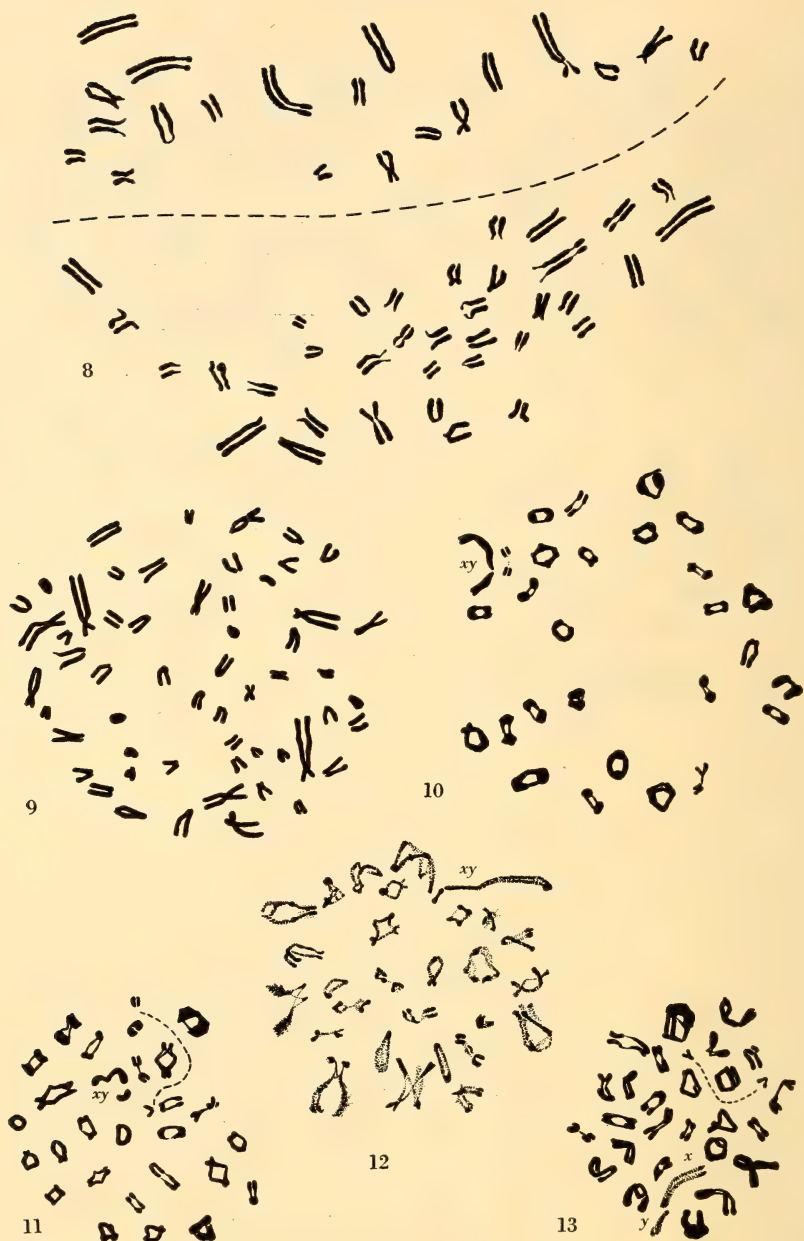


FIG. 8-13.

Phenacomys ungava.

Fig. 8 et 9: Prométaphases spermatogoniales. — Fig. 10-13: Métaphases I.
Feulgen. $\times 4.800$.

figures 11 et 13 illustrent des phases un peu plus tardives, à en juger par le comportement d'une petite tétrade déjà divisée en deux univalents. Il s'ensuit que ces deux figures montrent 29 constituants, et non 28 bivalents, comme les figures 10 et 12. Il est cependant admissible que la ségrégation d'une seule tétrade ne soit pas l'indice du début de l'anaphase mais traduise simplement la probabilité relativement grande pour qu'un chiasma ne se forme pas entre deux éléments très courts. Le complexe sexuel est de type **III/B**: l'**X** est d'aspect sub-métacentrique (rapport des bras $\frac{1}{2}$); la longueur du bras court est certainement exagérée du fait que ce bras, connecté à l'**Y**, se trouve sous tension. En effet, si ce rapport $\frac{1}{2}$ caractérise l'**X** de la figure 12, nous voyons que dans les figures 10 et 13 l'**X** paraît presque acrocentrique; la figure 11, par contre, nous présente l'**X** comme un **V** à branches inégales. En étudiant *Chilotus oregoni*, nous verrons combien l'aspect de l'**X** à la métaphase I doit être interprété avec prudence, si nous cherchons à localiser l'emplacement du centromère. L'**Y** est un court élément, souvent fléchi médianement.

3. *Microtus mexicanus* Saussure.

Je n'ai disposé, pour l'étude de cette espèce, que d'un seul individu, une femelle, reçue au mois de novembre. Les « squashes » de rate m'ont donné un nombre suffisant d'excellentes cinèses pour que la formule chromosomique ait pu être établie sans ambiguïté.

Divisions diploïdes (fig. 14-16). Le nombre **2N** est égal à 44; douze chromosomes mesurant de 9 à 5 μ sont nettement plus grands que tous les autres et peuvent être caractérisés de la manière suivante: la paire *n* est formée de deux longs associés sub-métacentriques (rapport des bras, $\frac{1}{3}$ - $\frac{1}{4}$). Le couple *o* tend à l'acrocentrie si nous nous en rapportons à la figure 15, alors que, dans les figures 14 et 16, ses constituants sont dotés d'un bras court très net, égal au quart environ du bras long. Les deux paires suivantes, *p* et *q*, groupent des **V** à bras presque égaux, la sub-acrocentrie réapparaissant chez les chromosomes de l'avant-dernier couple *r* ($\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{5}$). Les éléments *s* sont pourvus d'un attachement médian. Les 32 chromosomes restants sont par contre tous acrocentriques. Il n'est pas possible de désigner les deux chromosomes **X**: cependant, la ressemblance de la formule chromosomique de

M. mexicanus avec celle de certains congénères de l'ancien monde nous autorise à admettre qu'ils sont à rechercher dans la catégorie des 12 macrochromosomes. D'autre part, ceux-ci ayant tous un bras court distinct, le nombre fondamental (**N.F.**) peut être évalué à 56 ou, au minimum, à 54.

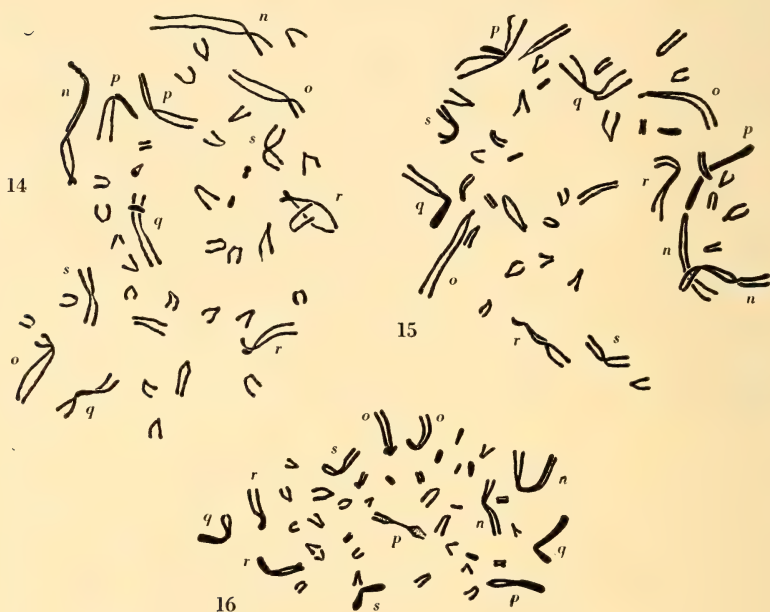


FIG. 14-16.

Microtus mexicanus.

Divisions diploïdes dans la rate de la femelle.
Feulgen. $\times 1.800$.

4. *Chilotus oregoni* Bachman.

Alors que les modernes ont supprimé le genre *Chilotus* et versé ses représentants dans le genre *Microtus*, nous verrons qu'il y a d'excellentes raisons cytologiques de maintenir la séparation.

Divisions spermatogoniales (fig. 17-23 et 17 c-19 c). Les prométaphases et métaphases spermatogoniales nous offrent un spectacle inattendu: le nombre de chromosomes est extraordinairement bas et ce nombre est impair: $2N = 17$. Pour analyser ce génome, recourons à la méthode des caryogrammes,

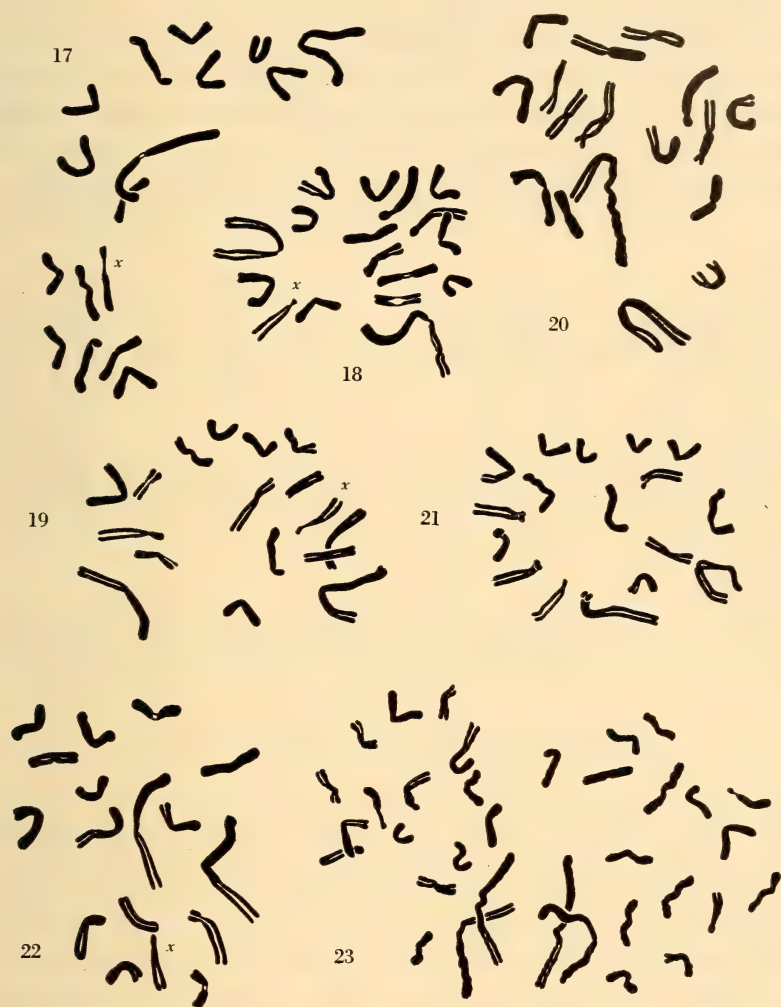


FIG. 17-23.

Chilotus oregoni.

Fig. 17-22: Prométaphases et métaphases spermatogoniales.

Fig. 23: Anaphase spermatogonale.

Feulgen. $\times 1.800$.

laquelle a souvent été critiquée (voir MATTHEY, 1949) mais demeure précieuse, surtout lorsque nous avons affaire, comme ici, à une formule simple. La figure 17 (17 c) est la plus claire: il existe 7 paires de V à branches égales ou subégales, une paire d'éléments

acrocentriques ($\frac{1}{4}$ environ) et un élément lui aussi acrocentrique dont la région centromérique est étirée en un connectif assez mince (dans les autres figures, ce segment centromérique est simplement marqué d'un étranglement). Cette classification est confirmée par l'analyse des figures 18 et 19 (18 c et 19 c) et, dans une moindre mesure par celle des figures 20 à 22. Dans ces trois dernières figures, nous rencontrons quelques difficultés relatives à la position du

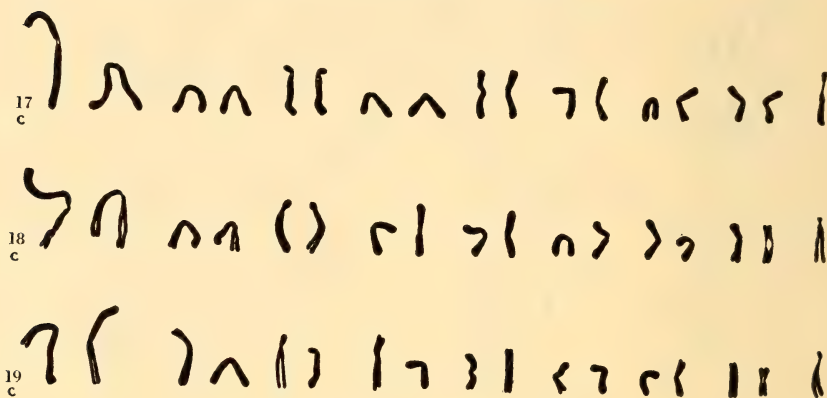


FIG. 17 c-19 c.

Chilotus oregoni.

La sériation des chromosomes des figures 17, 18, 19.

centromère: la figure schématique 24 montre qu'il n'est pas toujours possible de décider si tel point, où les deux chromatides se confondent, correspond bien au kinétochore ou bien à la superposition de ces deux chromatides enroulées en une spirale relationnelle lâche. On ne peut nier que, contrairement aux sériations des figures 17-19, dont le caractère objectif est incontestable, des sériations portant sur les figures 20 à 22 ne seraient pas dépourvues d'un certain arbitraire.

Nous reviendrons plus tard, à propos d'une comparaison qui s'impose, sur la nature du génome de *Chilotus*.

La figure 23 montre une anaphase immédiatement reconnaissable comme telle à la symétrie des quatre plus grands V disposés en deux groupes de deux. J'ai représenté cette figure dont la valeur est celle d'une mise en garde: il est fréquent que l'analyse des «squashes» montre des mitoses apparemment tétraploïdes: je suis

arrivé à la conviction qu'il s'agit le plus généralement d'anaphases dont les deux couronnes chromosomiques au lieu d'être juxtaposées (ce qui donne un contour en forme de 8 immédiatement reconnaissable) s'arrangent en une aire circulaire si régulière que l'illusion d'une métaphase tétraploïde en devient parfaite. Il s'agit là d'un artifice dû au gonflement osmotique provoqué par le prétraitement à l'eau et peut-être aussi par l'écrasement des cellules.

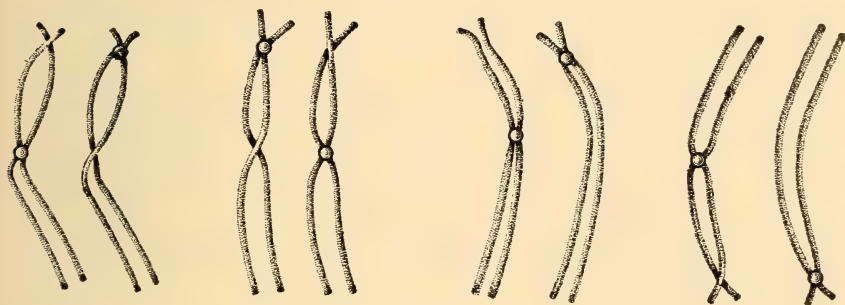


FIG. 24.

Dessins semi-schématiques démontrant la difficulté que présente souvent la localisation du centromère en raison d'une confusion possible avec un chevauchement des chromatides.

Chromosome X. — Nous avons identifié l'un des trois acrocentriques comme représentant l'hétérochromosome: dans les cas favorables, l'**X** se distingue des deux autosomes de même configuration générale par la brièveté et l'étroitesse de son bras court et par l'étranglement ou l'étirement prononcé de la région centromérique.

Divisions méiotiques (fig. 25-40). A la fin de la pachyténie (fig. 25), l'**X** se présente sous une forme tout à fait caractéristique, rappelant alors beaucoup ce que j'ai décrit chez *Microtus agrestis* (1950). Le chromosome a la configuration générale d'un point d'interrogation (?): le point inférieur répond à l'extrémité proximale, soit au bras court très effilé; la solution de continuité du signe typographique situe le centromère cytologiquement constituée de deux filaments parallèles ténus; la crosse elle-même est épaisse, d'aspect spongieux, soit que le corps du chromosome soit fortement gonflé, soit qu'il soit noyé dans une sorte de matrix. La plicature de ce bras long pourrait en imposer pour un centromère et laisser croire que l'hétérochromosome a la forme d'un **V**

à branches inégales, alors qu'il est certain que le centromère est contenu dans le bras court très mince qui semble se dégager, émerger, d'une gangue visqueuse enfermant le bras long courbé sur lui-même. A la diploténie tardive (fig. 26), le chromosome **X** est très condensé par rapport aux bivalents autosomiques et plus colorable que ceux-ci. Les figures 27 et 28 montrent, côte à côte, deux stades identiques dont je ferai des diacinèses avancées: bien qu'il s'agisse évidemment de deux cytes ayant évolué synchroniquement, on remarquera que la terminalisation des chiasmas de la plus grande tétrade est achevée dans la plaque du haut, fortement retardée dans celle du bas. L'**X**, encore que toute trace du gonflement antérieur ait disparu et que l'on ne puisse plus observer de gangue matricielle, conserve la courbure en ? de la diploténie, ce qui lui donne, la région centromérique n'étant ici pas distincte, l'aspect d'un métacentrique.

Les figures 29-33 illustrent la métaphase I avec ses huit bivalents et l'hétérochromosome unique: l'évolution de ce dernier est intéressante à suivre; dans la figure 29, l'aspect est le même qu'à la pachyténie, la région centromérique effilée précédée du bras court pointant d'une portion massive plicaturée dessinant un angle aigu; entre les deux branches de cet angle, se retrouve encore les restes d'une substance amorphe riche en **DNA**. La figure 32 répond à la même description tandis que les figures 30, 31 et 33 révèlent un **X** de calibre devenu régulier, le centromère étant bien visible, sous la forme d'un double chromomère, dans les figures 31 et 33. A l'anaphase (fig. 34), l'**X** passe tout entier à l'un des pôles, observation confirmée par l'étude des métaphases II où l'on compte, la fréquence des deux types étant égale, tantôt 9 (fig. 35-37), tantôt 8 éléments (fig. 38-40). Ce comportement nous ferait conclure sans hésiter à l'existence d'une digamétie mâle **X-O**, n'était le cas d'*Ellobius lutescens* (MATTHEY, 1953 a, 1954) qui, avec le même nombre de chromosomes que *Chilotus*, relève cependant d'un schéma de détermination sexuelle encore incompris, puisque ce nombre de 17 caractérise le mâle aussi bien que la femelle. Je suis cependant enclin à admettre — tout en réservant mon jugement définitif jusqu'au moment où j'aurai l'occasion d'analyser les cinèses de *Chilotus* ♀ — que ce dernier rongeur est effectivement du type **X-O**, **X-X**. En effet, alors que les deux catégories de métaphases II sont également représentées dans mes préparations, il

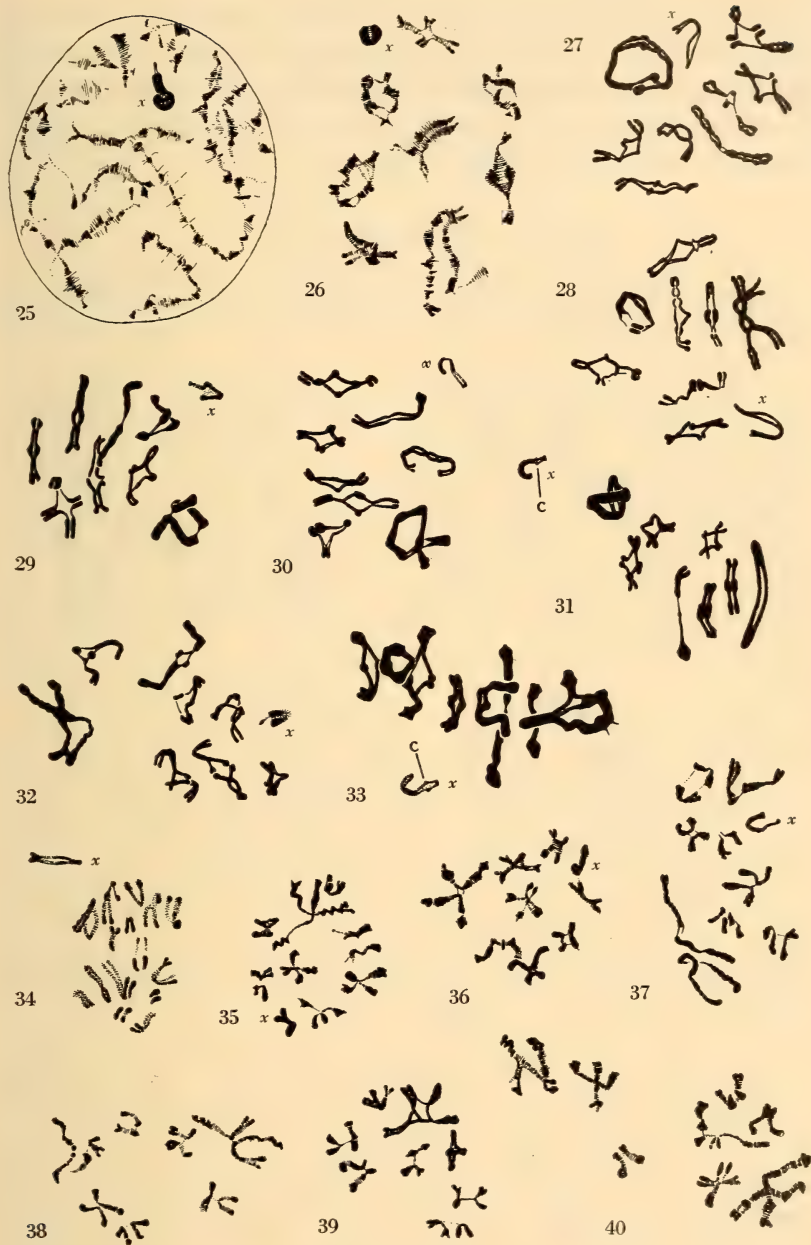


FIG. 25-40.

Chilotus oregoni.

Fig. 25: Pachyténie tardive. — Fig. 26: Diploténie tardive. — Fig. 27 et 28: Diacinèses avancées. — Fig. 29-33: Métaphases I. — Fig. 34: Anaphase I. — Fig. 35-40: Métaphases II: avec l'*X* (fig. 35-37) et sans l'*X* (fig. 38-40). Feulgen. $\times 1.800$.

n'en est pas de même chez *Ellobius* où des métaphases II à huit chromosomes n'ont pas été identifiées avec certitude. Avant de procéder à une comparaison méthodique de ces deux *Microtinae*, je présenterai encore quelques données supplémentaires sur les divisions diploïdes d'*Ellobius* femelle.

5. *Ellobius lutescens* Thomas.

Dans mes travaux antérieurs (1953 a, 1954), j'ai montré que les cinèses de la moëlle osseuse chez la femelle renfermaient le

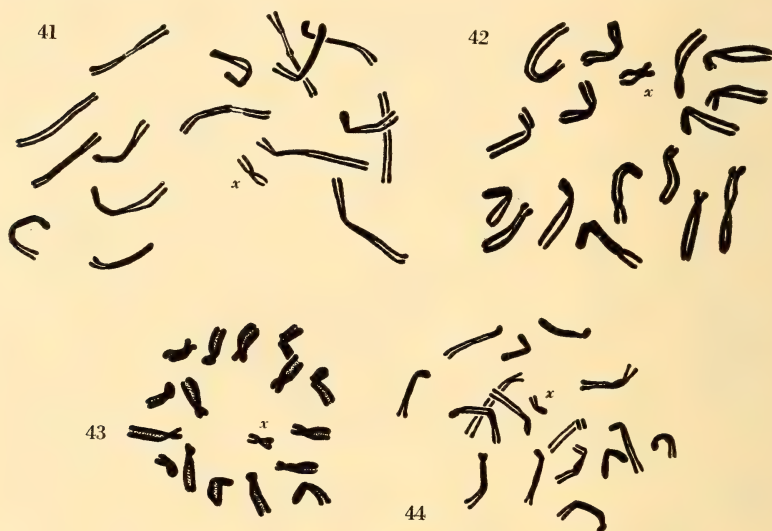


FIG. 41-44.

Ellobius lutescens.

Divisions diploïdes dans l'ovaire de la femelle (mitose des cellules folliculaires).
Feulgen. $\times 1.800$.

même nombre impair de chromosomes, dix-sept, que les cellules germinales du mâle et j'hésitais à généraliser cette observation ne portant que sur une catégorie de cellules somatiques: « Les cinèses femelles ont été observées dans la lignée myéloblastique seulement. Celle-ci serait-elle caractérisée par l'élimination d'un chromosome X ? La supposition, lourde de signification si elle était vérifiée, est hautement improbable mais ne peut être écartée *a priori*. » Les figures 41-44 ont été obtenues dans des « squashes » d'ovaire et

se rapportent vraisemblablement à des cellules folliculaires. Il est aisé de constater que le nombre 17 est également caractéristique de ces cellules et l'identité des formules chromosomiques mâle et femelle en devient d'autant plus certaine que j'ai pu procéder à quelques numérations dans des ovocytes I lesquels montraient clairement huit bivalents et un univalent.

COMPARAISON ENTRE LES GÉNOMES D'*ELLOBIUS LUTESCENS* ET DE *CHILOTUS OREGONI*

Je rappelle brièvement les éléments du problème ellobien dont la solution est encore pendante: a) la formule chromosomique, commune aux deux sexes, est remarquable par le très petit nombre de chromosomes et le caractère impair de ce nombre; b) ceci implique un mode singulier de détermination sexuelle, la *sex-ratio* étant par ailleurs normale; c) en toutes saisons, les mâles sont microrchides: la spermatogénèse se déroule régulièrement jusqu'à la métaphase I; les anaphases I et les métaphases II sont très rares, les métaphases II observées étant dotées de 9 chromosomes; les stades ultérieurs manquent.

La ressemblance entre formules chromosomiques d'*Ellobius* et de *Chilotus* est si grande qu'une comparaison précise s'imposait. Voici quels sont les éléments à partir desquels j'ai confectionné la figure 45. Pour chaque espèce, j'ai choisi les dessins, eux-mêmes obtenus par agrandissement au triple de microphotographies, se rapportant aux cinèses les plus claires que j'avais étudiées et j'ai projeté ces dessins de manière à amener le grossissement à 16.200 (microphotos: négatif $\times 600$; positif $\times 1.800$; dessin $\times 3.600$; projection $\times 16.200$). Il est alors facile de mesurer avec précision chaque chromosome et d'établir la longueur du bras court et du bras long. Voici les résultats de ces mesures:

<i>Ellobius</i>	Longueur totale ¹	Σ bras courts	Σ bras longs
Division spermatogoniale .	1.375	357	1.018
Mitose moëlle osseuse . . .	1.860	460	1.420
Mitose moëlle osseuse . . .	2.827	697	2.130

¹ Ces chiffres sont donnés en millimètres; pour obtenir les valeurs réelles en microns, il faut les diviser par 16.200.

Ellobius : J'ai utilisé une cinèse spermatogoniale et deux cinèses de la moëlle osseuse; ces dernières étant plus grandes et dotées de chromosomes plus longs, il était nécessaire de s'assurer qu'elles pouvaient être valablement comparées aux divisions spermatogoniales.

Le rapport $\frac{\Sigma \text{ bras courts}}{\Sigma \text{ bras longs}}$ est donc très constant: $\frac{35}{100}$, $\frac{\sim 32}{100}$, $\frac{\sim 35}{100}$, ce qui nous montre que les proportions relatives restent les mêmes dans divers types de divisions, alors même que les cellules de diverses lignées et leurs constituants peuvent varier en grandeurs absolues.

<i>Chilotus</i>	Longueur totale	Σ bras courts	Σ bras courts
Division spermatogoniale .	1.205	490	715
Id. .	1.359	563	796
Id. .	1.409	609	800

Ici encore, le rapport $\frac{\Sigma \text{ bras courts}}{\Sigma \text{ bras longs}}$ ne varie que dans de faibles limites, soit environ, $\frac{68}{100}$, $\frac{70}{100}$ et $\frac{75}{100}$.

D'autre part, la longueur totale des chromosomes, dans les figures spermatogoniales les mieux étalées, atteint, pour les deux espèces, $85 \pm 1 \mu$. J'ai montré ailleurs (1954) que cette longueur ne dépendait pas du nombre de chromosomes, mais demeurerait la même chez des *Microtus* à 30 et à 56 chromosomes. Les éléments chromatiques des deux genres considérés ici doivent donc renfermer le même nombre de gènes que ceux des autres *Microtinae*, mais les groupes de « linkage » seront beaucoup plus étendus, à moins que la distribution en un petit nombre de chromosomes ne soit compensée par des « crossing-over » multiples.

Notre figure 45, où les proportions relatives sont rigoureusement observées, illustre alors d'une manière très expressive le principe de l'évolution homologue formulé par WHITE (1945). Chez *Chilotus*, la tendance à la métacentrie intéresse sept paires d'autosomes sur huit, la paire C et le chromosome X étant seuls acrocentriques. Chez *Ellobius*, sept paires sur huit tendent à l'acrocentrie, la huitième paire et l'hétérochromosome étant par contre en forme de V.

Il s'ensuit que nous n'avons d'homologie morphologique que pour les couples **C** et **H**.

Il n'est certes pas possible d'exclure totalement l'hypothèse d'une évolution parallèle chez *Chilotus* et *Ellobius*. Cependant, cette idée me semble doublement invraisemblable: le mode de détermination du sexe chez *Ellobius*, quel que soit son mécanisme

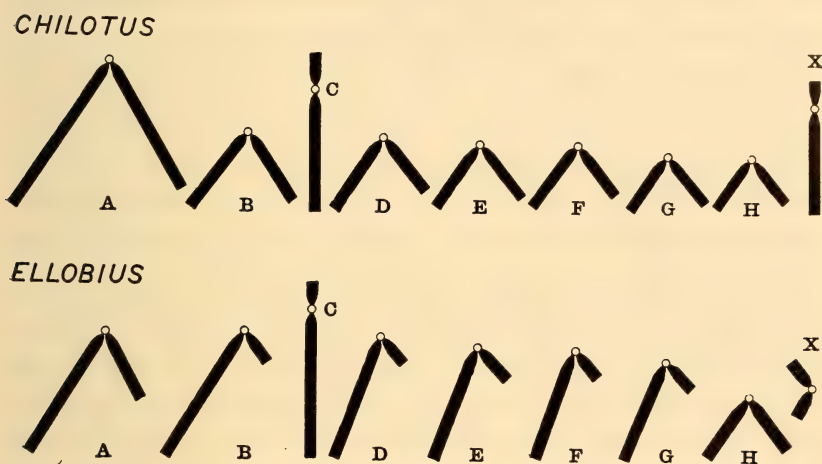


FIG. 45.

Chilotus et *Ellobius*.

Comparaison des génomes des deux genres. L'homologie morphologique ne porte que sur les éléments **C** et **H**.

précis, ne peut être considéré que comme secondairement acquis, puisque le schéma **X-Y** est de règle chez les Mammifères. Or, *Chilotus* nous présente le même nombre inusité de chromosomes, le caractère impair de ce nombre dix-sept impliquant un type de détermination sexuelle dérivé. Il est probable qu'il relève d'une digamétie **X-O**; si tel est bien le cas (ce que l'analyse des femelles permettra de dire), *Chilotus* est un intermédiaire idéal entre le type général **X-Y** et le mode aberrant d'*Ellobius*. Si par contre *Chilotus* montrait 17 chromosomes dans les deux sexes, ce fait serait l'indice d'une proche parenté entre les deux genres. En tout état de cause, *Chilotus* joue le rôle d'un « missing-link » entre *Ellobii* et *Microti*.

LA SYSTÉMATIQUE DES MICROTINAE

Nous suivrons ici les idées de HINTON (1926) auxquelles les modernes n'ont pas apporté de modifications importantes: c'est ainsi qu'ELLERMAN (1941), suivant d'ailleurs une suggestion de HINTON lui-même, incorpore les *Brachytarsomys* à la sous-famille; d'autre part, il supprime le genre *Chilotus* dont il assimile les espèces au genre *Microtus* et il donne un statut générique aux *Blanfordimys*. Comme on le voit, le travail de HINTON, que je vais chercher à résumer brièvement, est demeuré classique.

Les *Microtinae* sont à dériver d'une souche murine exploitant une nourriture plus grossière (mousses, herbes, écorces, racines) que leurs ancêtres, ce changement de régime leur ayant ouvert la vaste « niche écologique » de toute la zone holarctique. L'adaptation générale est orientée vers la vie fouisseuse, plus rarement amphibie, et entraîne des modifications de divers organes, des dents et du tractus digestif en particulier. Si, sur quelques points, les *Microtinae* se situent à un niveau inférieur à celui des *Murinae*, ils constituent par l'ensemble de leurs caractères une sous-famille hautement spécialisée. HINTON ne doute pas que les *Lemmi* ne soient les plus archaïques, dont les genres, par ordre de spécialisation croissante, sont à disposer selon la série *Dicrostonyx*, *Synaptomys*, *Myopus*, *Lemmus*.

Le rameau des *Microti* compte un certain nombre de genres primitifs que l'on peut classer avec leurs dérivés en trois groupes:

1) le complexe *Evotomys*, avec les genres *Evotomys* (= *Clethrionomys*), *Antelomys*, *Aschizomys*, *Eothenomys*, *Alticola*, ce dernier étant à l'origine des *Hyperacrius*, fouisseurs spécialisés;

2) le genre *Phenacomys* semble avoir donné quatre rameaux; le plus grêle aboutit aux *Orthriomys* et *Herpetomys*, formes montagnardes de l'Amérique centrale; un second conduit aux *Ondatra* et *Neofiber* adaptés à la vie aquatique; enfin, beaucoup plus important, le troisième phylum se clive en deux branches, l'une conduisant aux *Pitymys* et genres affines (*Neodon*, *Tyrrhenicola*), l'autre aux *Microtus* et à leurs alliés, soit les *Proedromys* encore archaïques, les *Pedomys*, intermédiaires à plusieurs points de vue entre les

Pitymys et les *Microtus*, enfin les genres plus fouisseurs, *Lasiopodomys* et *Chilotus*;

3) le troisième groupe dérive des *Dolomys*, très primitifs mais cependant un peu plus spécialisés que les chefs de file des complexes précédents (*Evotomys* et *Phenacomys*). On peut dériver des *Dolomys* les *Apistomys*, puis les *Mimomys* prolongés par nos *Arvicola* dont plusieurs formes tendent à l'existence amphibie.

Restent alors deux genres dont les représentants unissent des traits archaïques à une spécialisation fouisseuse extrême et dont l'appartenance à une souche unique est probable, encore que, pour creuser, les *Prometheomys* utilisent leurs pattes antérieures et les *Ellobius* leurs dents. Ces deux genres, d'affinités mystérieuses pour le taxonomiste, légitiment la création d'une troisième coupure: aux *Lemmi* et aux *Microti*, nous ajouterons les *Ellobii* (soit la tribu des *Ellobiini* de SIMPSON, 1945).

Pour donner une idée de l'importance des divers genres, je citerai ces chiffres que je tire de l'ouvrage d'ELLERMAN (1941): sur 229 espèces de *Microtinae*, il y a 31 *Clethrionomys*, 17 *Alticola*, 32 *Pitymys* et 92 *Microtus*. Des trente et un genre énumérés (trois étant fossiles), quatre renferment donc 172 espèces, soit le 75%.

Retenons de cette courte analyse d'un système taxonomique un certain nombre de données et de problèmes que nous pouvons aborder sous l'angle de la cytologie chromosomique: 1) la séparation des *Lemmi* et des *Microti*; 2) la position archaïque des trois genres *Clethrionomys*, *Phenacomys*, *Dolomys*, souches présumées des *Microti*; 3) les rapports des *Ellobii* avec les autres *Microtinae*; 4) diverses questions touchant les rapports intergénériques et l'évolution au sein des genres riches en espèces.

CYTOLOGIE, TAXONOMIE ET ÉVOLUTION DES MICROTINAE

Voici un tableau des formules chromosomiques actuellement connues chez les *Microtinae*. Les données qui ne sont pas accompagnées d'une référence ont été publiées par moi-même. Lorsque j'ai pu vérifier les résultats d'un autre auteur, je l'indique également.

Espèces	2N	N. F.	Références
L e m m i			
<i>Dicrostonyx groenlandicus</i> . . .	44	48	
<i>Lemmus lemmus</i>	50	50	
M i c r o t i			
<i>Arvicola amphibus amphibius</i> .	36	62	MULDAL, 1950, MATTHEY, 1955
<i>A. sapidus</i>	40	62	
<i>A. scherman</i>	36	62	
<i>A. terrestris</i> (2 ssp.)	36	62	
<i>Chilotus oregoni</i>	17	< 34	
<i>Clethrionomys gapperi</i>	56	56	
<i>C. glareolus</i>	56	56	
<i>C. rutilus</i>	56	56	MAKINO, 1949
<i>Dolomys bogdanovi</i>	56	56	
<i>Eothenomys melanogaster</i>	56	56	TATEISHI, 1937
<i>Microtus agrestis</i>	50	52	
<i>M. arvalis</i>	46	58	
<i>M. californicus</i>	54	56	
<i>M. guentheri</i>	54	56	
<i>M. incertus</i>	46	58	
<i>M. irani</i>	54	54	
<i>M. kikuchii</i>	30	58	MAKINO, 1950
<i>M. longicaudus</i>	56	80	
<i>M. mexicanus</i>	44	56	
<i>M. montanus</i>	24	46	
<i>M. montebelli</i>	31	54	OGUMA, 1937
<i>M. nivalis</i>	56	58	
<i>M. orcadensis</i>	46	58	
<i>M. pennsylvanicus</i>	46	52	
<i>M. ratticeps</i> (= <i>oeconomus</i>) . .	30	58	MAKINO, 1950, MATTHEY, 1954
<i>M. socialis</i>	62	62	
<i>M. townsendii</i>	50	?	CROSS, 1931
<i>Ondatra zibethica</i>	54	56	MAKINO, 1953, MATTHEY, 1954
<i>Pedomys ochrogaster</i> (2 ssp.) . .	54	56	
<i>Phenacomys ungava</i>	56	58	
<i>Pitymys duodecimcostatus</i>	62	62	
<i>P. fatioi</i>	48	54	
<i>P. multiplex</i>	48	54	
<i>P. pinetorum</i>	62	62	
<i>P. subterraneus</i>	54	58	
E l l o b i i			
<i>Ellobius lutescens</i>	17	< 34	

Cet « échantillon » de 38 espèces correspond donc à un sixième des espèces décrites, et 13 genres sur 28 ont fait l'objet d'investigations cytologiques. Bien que ces chiffres soient encore bien insuffi-

sants, les documents nous permettent déjà de tracer les linéaments d'une première tentative de synthèse.

A. LEMMI ET MICROTI.

Bien que KRETZOÏ (1955) ait récemment proposé de distraire les *Dicrostonyx* du groupe de Lemmings, la plupart des systématiciens maintiennent que ce genre renferme les membres les plus primitifs de cette tribu. L'analyse de *Lemmus lemmus* est plutôt favorable à ce point de vue: en consultant la liste précédente, on constate qu'il n'y a que deux *Microti*, sur 35, dont le **N.F.** soit inférieur à 52. Or, chez les deux espèces de Lemmings étudiées, le **N.F.** est égal à 48 et à 50. D'autre part, nous verrons que les nombres diploïdes 54 et 56 caractérisent tous les *Microti* primitifs; les deux genres de *Lemmi* sont caractérisés par des valeurs inférieures (44 et 50) toutes proches de leurs nombres fondamentaux, eux-mêmes inférieurs à ceux de la grande majorité des *Microti*. Et ceci rapproche les *Lemmi* des *Murinae*; en effet, si nous calculons la moyenne des nombres diploïdes dans les diverses sous-familles des *Muridae*, nous obtenons les valeurs suivantes:

<i>Murinae</i>	(33 espèces)	moyenne =	43,9
<i>Cricetinae</i>	(19 espèces)	»	= 42,9
<i>Gerbillinae</i>	(25 espèces)	»	= 49,9
<i>Microtinae</i>	(38 espèces)	»	= 46,6

A ces 115 espèces, ajoutons les données relatives à la sous-famille des *Steatomyinae* (une espèce à 68 chromosomes) et à celle des *Tachyoryctinae* (une espèce à 48 chromosomes) et nous arrivons à la moyenne générale pour 117 espèces de *Muridae*, soit 47,03. Remarquons que les moyennes obtenues pour les *Cricetinae* et les *Microtinae* sont abaissées, dans le premier cas par les formules vraiment aberrantes des *Cricetus* et *Cricetulus* ($2N = 22$), dans le second par celles d'*Ellobius* et de *Chilotus* ($2N = 17$). Il y a là des fluctuations d'échantillons qui, le nombre de données étant restreint, peuvent jouer un rôle assez important. En dépit de ces réserves, il n'est pas interdit de supposer que les *Lemmi* sont plus proches de la souche primitive que les *Microti*, mais nous devons reconnaître que cette hypothèse ne sera jamais assurée du point de vue statistique, car l'échantillon *Lemmi* renfermera au maximum quatre don-

nées, soit le nombre des genres de la tribu. Si toutefois l'analyse de *Synaptomys* et de *Myopus* nous livrait une confirmation supplémentaire, l'hypothèse, en parfait accord avec la taxonomie classique, pourrait être considérée comme vraisemblable.

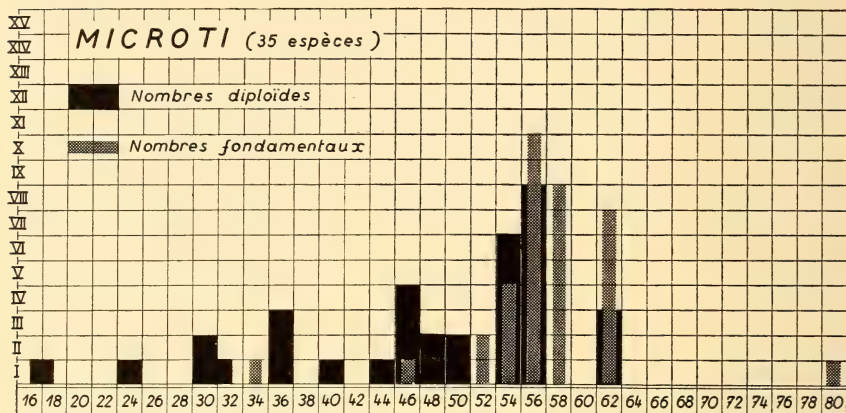


FIG. 46.

Nombres diploïdes et nombres fondamentaux (N.F.) chez 35 espèces de *Microti*.

B. LA FORMULE CHROMOSOMIQUE PRIMITIVE DES MICROTI.

La figure 46 montre que, sur 35 espèces de *Microti*, 31 ont des N.F. compris entre 52 et 62 et 22 entre 54 et 58: ces valeurs peuvent être qualifiées de modales. Il est alors remarquable de constater que les genres reconnus comme primitifs par HINTON entrent tous dans l'éventail étroit de ces valeurs modales et présentent en même temps un nombre diploïde égal ou très voisin, l'équipement chromosomique étant donc constitué par des éléments acrocentriques. Si nous exprimons par une fraction $\frac{2N}{N.F.}$ la formule chromosomique de ces genres archaïques, nous obtenons: *Clethrionomys*, $\frac{56}{56}$; *Phenacomys*, $\frac{56}{58}$; *Dolomys*, $\frac{56}{56}$. Et d'autres genres, qualifiés également de peu évolués, complètent le tableau: *Eothenomys*, $\frac{56}{56}$; *Ondatra*, $\frac{54}{56}$. Chez les *Pedomys* qui se placent à la bifurcation des rameaux

Pitymys et *Microtus*, c'est encore le rapport $\frac{54}{56}$ qui apparaît. Il faut noter que l'écart entre nombres diploïdes et fondamentaux ne dépend que de la morphologie des chromosomes **X** lesquels sont tantôt acrocentriques, tantôt métacentriques (les **N.F.** que je donne se rapportent toujours au sexe femelle, donc à des cellules à **2X**). J'ai fait remarquer (1954) « ... que la configuration hétérochromosomique n'a pas grande signification taxonomique » et il ne faut pas non plus oublier que le type d'attachement des chromosomes sexuels est souvent très difficile à déterminer (*vide supra*, *Chilotus*). En ce qui concerne les autosomes, l'identité numérique et morphologique est frappante et, dans ce cas, renonçant à la réserve prudente de WHITE (1945), nous pouvons parler d'un nombre primitif et non plus seulement d'un nombre modal. Il y a donc un accord parfait entre les résultats issus de l'analyse morphologique et ceux mis en évidence par la cytologie, ce qui implique que dans les genres archaïques survivants il y a eu parallélisme étroit entre évolution morphologique et évolution chromosomique, les deux processus étant également ralentis ou inhibés.

C. LE RÔLE ET LA DIRECTION DES FUSIONS CENTRIQUES.

Nous pouvons aller plus loin; il est souvent difficile de savoir si les processus robertsoniens se déroulent dans une direction plutôt que dans une autre, si la transformation schématique $2\text{I} \rightarrow 1\text{V}$ est plus fréquente que son inverse où $1\text{V} \rightarrow 2\text{I}$. Il est vrai que cette deuxième éventualité postule un gain de centromère et apparaît donc *a priori* comme moins probable. Cependant, la question du centromère dans les chromosomes métacentriques n'est pas suffisamment claire pour que cet argument puisse peser d'un poids très lourd.

Chez les *Microtinae*, il est maintenant évident que l'évolution s'est faite dans le sens $2\text{I} \rightarrow 1\text{V}$. Laissons de côté, pour l'instant, les cas exceptionnels, soit ceux de *Chilotus oregoni*, *Microtus longicaudus*, *M. montanus* et *Ellobius lutescens* qui seront discutés plus bas. Il nous reste alors 32 espèces dont les nombres diploïdes vont de 30 à 62 et les **N.F.** de 52 à 62. Nous avons fixé les valeurs modales de ces nombres à $\frac{54-58}{54-58}$; nous remarquons donc que, dans un petit nombre de cas, il y a eu augmentation des nombres diploïdes

et fondamentaux. C'est alors le chiffre 62 qui apparaît et dans des genres où une valeur modale existe également: *Microtus socialis* ($2N = 62$) versus *M. irani* ($2N = 54$); *Pitymys duodecimcostatus* et *P. pinetorum* ($2N = 62$) versus *P. subterraneus* ($2N = 54$). Rappelons que dans le cas *socialis-irani* il s'agit de deux formes si voisines que les taxonomistes ne peuvent les distinguer (MATTHEY, 1954). Il y a donc eu passage d'une formule modale à une formule comportant des valeurs plus élevées, selon un mécanisme de « fragmentation » qui nous est inconnu mais qui pourrait se fonder sur des inversions péricentriques: Formule primitive: $2N = 54$; par inversion péricentrique, portant sur quatre paires: $2N = 46 I + 8 V$; et, après dislocation robertsonienne des métacentriques: $46 I + 16 I = 62$.

Avec le genre *Arvicola*, nous rencontrons un cas un peu différent: le nombre $2N$ est bas, 36 ou 40, le **N.F.** élevé, 60 ou 62, plus probablement (MATTHEY, 1955). Douze paires, peut-être treize, sont formées de plus grands chromosomes certainement issus de fusions centriques: **N.F.** = 26 (24) $V + 10$ (12) $I = 62$ (60).

Les autres espèces de *Microtinae* sont reliées entre elles par des relations robertsoniennes typiques: aux nombres diploïdes 30 (2 espèces), 32 (1 espèce), 44 (1 espèce), 46 (4 espèces), 48 (2 espèces), 50 (1 espèce), 54 (6 espèces), 56 (8 espèces), correspondent les **N.F.** de 58, 54, 56, 52 et 58, 54, 52, 54 et 56, 56 et 58. C'est dire la constance relative du nombre de « bras », les grands **V** apparaissant d'autant plus nombreux que le nombre diploïde est plus bas.

Ainsi l'évolution chromosomique de 25 espèces (sur les 35 de notre échantillon) peut s'expliquer sans faire appel à d'autres notions qu'à celle de fusion centrique.

D. LES CAS EXCEPTIONNELS.

I. *Microtus longicaudus* et *M. montanus*.

J'ai donné (1955) une description de la constitution chromosomique de *M. longicaudus* et attiré l'attention sur le caractère singulier de celle-ci: le nombre $2N$ est franchement modal, soit 56; mais le **N.F.** est beaucoup plus grand: les chromosomes sont relativement petits (les plus longs mesurent 5μ dans les prométaphases, $2-3 \mu$ dans les métaphases spermatogoniales) et plus de la moitié

d'entre eux sont méta- ou sub-métacentriques. Le **N.F.** est donc égal à 80 au minimum.

J'ai montré en 1953 et dans le présent travail (*vide* page 54) que la longueur totale des chromosomes d'*Ellobius* et de *Chilotus* ($2N = 17$) était de $85 \pm 1 \mu$, soit approximativement égale à celle (88μ) de *Clethrionomys glareolus* ($2N = 56$) et de *Microtus oeconomus* ($2N = 30$; 88μ). Chez *M. longicaudus*, cette longueur demeure

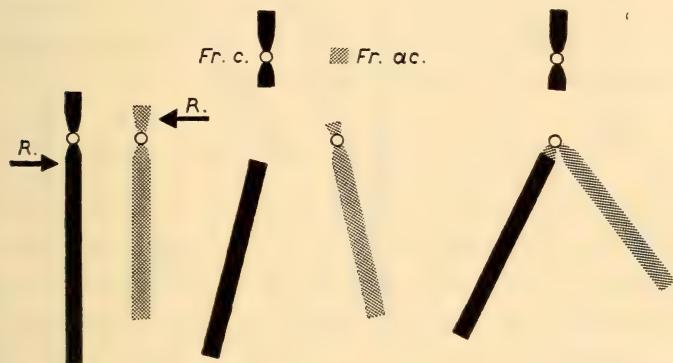


FIG. 47.

Le mécanisme de formation des **V** par translocation mutuelle.
Fr. c. = Fragment centrique. — *Fr. ac.* = Fragment acentrique.
R. = Rupture.

constante (84μ), comme d'ailleurs chez *Microtus montanus* (89μ) dont nous parlerons tout à l'heure.

Il est donc certain qu'en moyenne un chromosome métacentrique de *M. longicaudus* équivaut à un chromosome acrocentrique de *Clethrionomys* ou de tout autre Campagnol à 56 chromosomes. Nous devons en conclure que le mécanisme responsable de la formation des **V** n'est plus la fusion centrique, mais l'inversion péri-centrique transposant le centromère d'une extrémité vers la région médiane du chromosome. Que ce mécanisme soit rare résulte bien du fait qu'un seul de nos 38 *Microtinae* le manifeste.

Microtus montanus (MATTHEY, 1954) a 24 chromosomes, soit 22 autosomes métacentriques et 2 hétérochromosomes, **X** et **Y**, acrocentriques et de taille relativement très petite. La longueur totale étant la même que chez les autres Campagnols, le **N.F.** n'est cependant que de 46. La seule explication en accord avec les

données actuelles (fig. 47) est celle-ci: chaque grand **V** résulte d'une translocation réciproque entre deux chromosomes acrocentriques, ce qui donne précisément un métacentrique, un fragment centrique et un fragment acentrique; ce dernier étant immédiatement éliminé, puisque dépourvu de centromère, le fragment centrique persiste dans le cas général, ce qu'atteste la constance du **N. F.** Nous devons admettre, dans le cas de *M. montanus*, que la rupture située dans le bras long de chromosomes eux-mêmes extrêmement acrocentriques s'est produite si près du centromère que le dit fragment, réduit à l'état d'un kinétochore isolé, aura pu disparaître sans qu'il y ait perturbation de l'équilibre génétique.

II. *Chilotus oregoni* et *Ellobius lutescens*

Nous avons jusqu'ici relevé les processus évolutifs suivants de la formule chromosomique chez les *Microtinae*: a) des fusions centriques, dont le rôle est primordial et la fréquence très élevée; b) des inversions péricentriques apparaissant très rarement (1 cas sur 36 espèces de *Lemmi* et de *Microti*). Nous pouvons essayer, en combinant ces deux mécanismes, de nous faire une idée du mécanisme qui, dans deux cas, a abaissé le nombre diploïde à 17. Maintenant que l'analyse de la formule chromosomique de *Microtus oregoni* nous a prouvé qu'une telle formule avait nécessairement dérivé d'une constitution primitive de type *Clethrionomys-Phenacomys-Dolomys* ($2N = 56$ acrocentriques) et que cette analyse nous permet de rattacher étroitement *Ellobius lutescens* aux *Microti*, nous devons alors tenter une reconstitution schématique qui puisse nous conduire des conditions primitives et modales à celles que nous offrent les deux espèces en question. Notre point de départ, c'est que chaque chromosome de nos deux espèces à $2N = 17$ correspond approximativement à quatre éléments acrocentriques des *Microtinae* à formule primitive.

La figure 48 nous montre alors quatre acrocentriques non homologues formant deux **V** par fusions centriques.

Recourant ensuite à l'explication qui nous a été imposée par l'analyse du génome de *M. longicaudus*, nous faisons appel à des inversions péricentriques qui transformeront les éléments métacentriques néoformés en chromosomes acrocentriques. Une nouvelle fusion centrique intervenant, nous aboutissons à un grand **V**

constitué par la quasi-totalité des quatre chromosomes primitifs, amputés de trois fragments centriques et de trois fragments acen- triques de dimensions négligeables. En généralisant ce processus, ce qui est conforme au principe de WHITE, nous arriverons à 14 chromosomes métacentriques et à 42 fragments centriques.

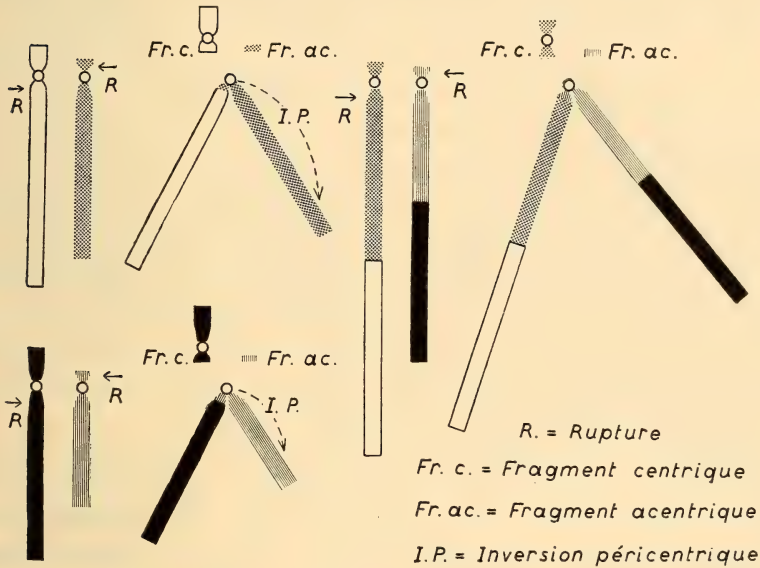


FIG. 48.

Hypothèse sur la dérivation de la formule chromosomique d'*Ellobius* ou de *Chilotus* à partir d'une formule primitive. Quatre chromosomes non-homologues donnent, par translocations réciproques, deux éléments métacentriques que des inversions péricentriques transforment en éléments acrocentriques s'unissant à nouveau par translocation mutuelle.

L'écart de 14 à 17 pourrait être attribué à la disparition de 39 fragments centriques, 3 seulement ayant persisté: le cas de *M. montanus* nous a effectivement montré une élimination massive de fragments dotés d'un centromère.

Quant à l'évolution des chromosomes sexuels, elle demeure mystérieuse; je pense qu'il est vain d'aborder ce sujet avant d'avoir la confirmation du schéma ♂ **X-O**, ♀ **X-X** pour *Chilotus* et la description complète de la méiose chez *Ellobius* où les deux sexes sont dotés de 17 chromosomes. Cependant, le professeur M. J. D. WHITE (*in litteris*) m'a soumis une interprétation ingénieuse selon laquelle

les chromosomes sexuels seraient « attachés »: l'élément impair du mâle serait formé de l'**X** et de l'**Y**, celui de la femelle des deux **X**. Cette hypothèse étend donc aux hétérochromosomes les processus d'association mis en évidence ci-dessus et elle rend compte de la *sex-ratio* normale; elle a par contre le désavantage de postuler la persistance de l'**Y** et ne permet donc pas de dériver le type *Ellobius* du type *Chilotus* où un schéma **X-O**, **X-X** est très probable.

E. LA PHYLOGÉNIE DES MICROTINAE.

J'ai représenté dans la figure 49, et en ne tenant compte que des formes ayant été cytologiquement étudiées, la filiation des *Microtinae* telle qu'elle se déduit du travail de HINTON (1926). J'ai ajouté à cette reconstitution fondée sur les méthodes classiques de la morphologie l'ensemble des données cytologiques actuellement disponibles. Le rameau des *Lemmi* se distingue alors par un **N. F.** voisin de 48, les nombres **2N** étant identiques (*Lemmus*) ou légèrement inférieur (*Dicrostonyx*). Dans la figure 49, ces deux nombres sont indiqués par une fraction **2N / N. F.**

Les trois genres primitifs des *Microti*, *Clethrionomys*-*Phenacomys*-*Dolomys*, présentent une remarquable uniformité chromosomique: **2N** = 56. Le **N. F.** est de 58 chez *Phenacomys* où les hétérochromosomes sont en forme de **V**, de 56 chez *Clethrionomys* et *Dolomys*. *Eothenomys* ne diffère pas de *Clethrionomys*.

La dérivation des *Arvicola*, à partir des *Dolomys*, s'accompagne de nombreuses fusions centriques et par conséquent d'un abaissement du nombre **2N** à 36 ou à 40, le **N. F.** augmentant par contre quelque peu (60 ou 62).

Des *Phenacomys*, les *Ondatra* ne se distinguent que par une légère réduction du nombre diploïde qui passe de 56 à 54, les *Pedomys* ayant exactement la même formule. Nous arrivons ainsi aux deux grands genres *Pitymys* et *Microtus*. Trois des espèces de *Pitymys* étudiées peuvent être disposées sur les branches d'un éventail robertsonien où, pour des nombres diploïdes de 48, 48, 54, nous trouvons des **N. F.** de 54, 54, 58. Par contre, *P. pinetorum* (américain) et *P. duodecimcostatus* (européen) franchissent la limite supérieure des valeurs modales avec la formule 62/62.

Chez 13 espèces de *Microtus*, le **N. F.** est compris entre 52 et 58, les nombres diploïdes allant de 30 à 56: la comparaison de ces

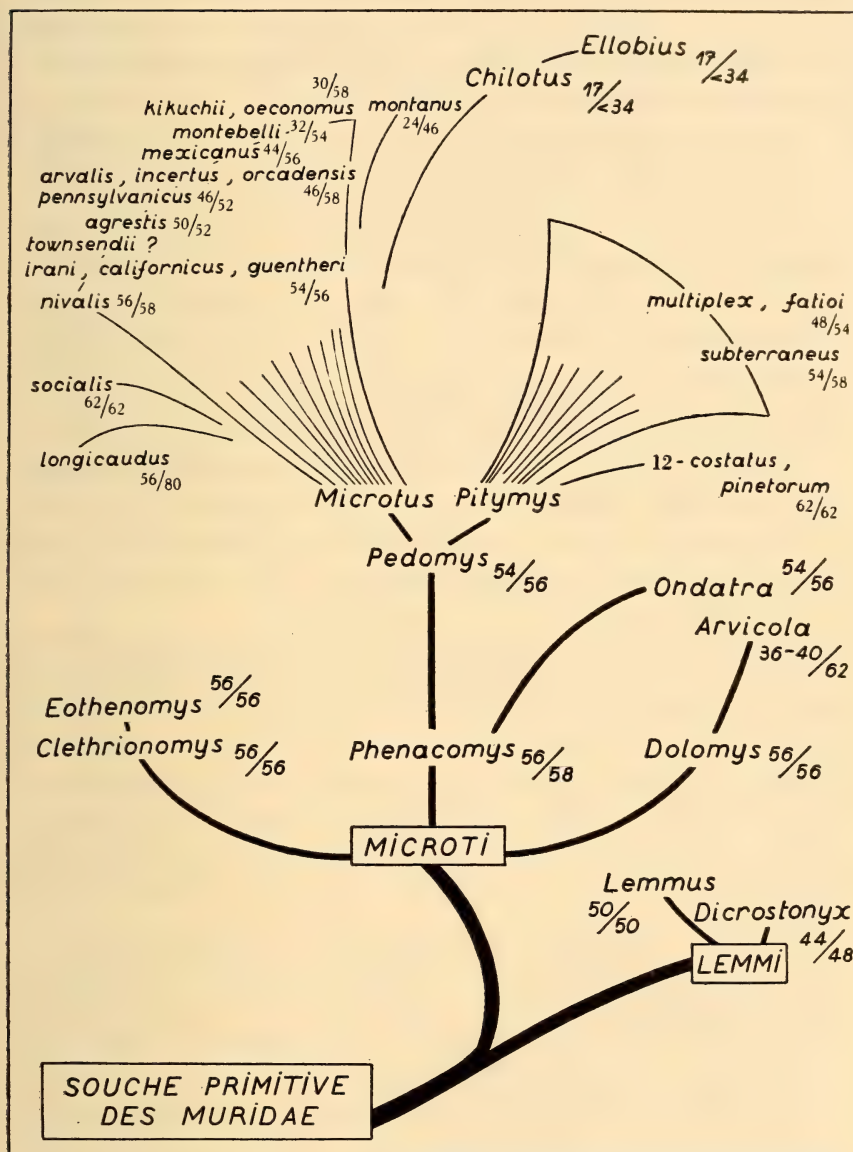


FIG. 49.

Ce schéma explicite la filiation des *Microtinae* selon les données de HINTON. Seuls, les espèces et les genres ayant fait l'objet d'études cytologiques sont portés sur ce tableau. Les fractions consécutives aux divers noms correspondent, le numérateur au nombre 2N, le dénominateur au nombre de bras (N.F.).

chiffres atteste l'importance des fusions centriques. Il est remarquable que le nombre $2N = 56$ n'apparaît qu'une seule fois, chez *M. nivalis* qui, de ce point de vue, est le plus primitif des *Microtus* (sous-genre *Chionomys*).

Chez *M. pennsylvanicus* (américain) et *M. agrestis* (européen), le **N. F.** est semblable et abaissé à 52. On sait que ces deux espèces ont été considérées comme « jumelles »; cependant, dès 1952, j'ai montré qu'elles sont séparées par des différences cytologiques considérables, la principale étant, chez *M. agrestis*, la présence de chromosomes sexuels géants. *M. socialis* est si étroitement voisin de *M. irani* que les systématiciens ne peuvent les distinguer à coup sûr (MATTHEY, 1956 a); *irani* est cependant logé dans le spectre des valeurs modales (54/56) dont *socialis* sort, exactement à la manière de *Pitymys pinetorum* et de *P. duodecimcostatus* (62/62).

Un cas particulier est celui de *M. longicaudus* (56/<80) qui unit à un nombre diploïde archaïque un **N. F.** très élevé, ce que nous avons expliqué, non par des fusions centriques, mais par des inversions péricentriques reportant le centromère vers la région médiane de chromosomes primitivement acrocentriques.

De l'autre côté de l'éventail robertsonien, le cas de *M. montanus* est également singulier: l'espèce est nettement caractérisée par des nombres diploïdes et fondamentaux très bas (24/46). A ne considérer que le critère cytologique, *M. montanus* serait à rapprocher des *Lemmi*; en tenant compte de la position que lui assignent les taxonomistes dans le genre *Microtus*, nous devons estimer que cette double réduction numérique est secondaire que nous avons expliquée par l'élimination de nombreux fragments centriques lors de la formation des grands V.

Enfin, les *Chilotus* sont cytologiquement si aberrants et d'autre part si évidemment placés sur la lignée qui conduit aux *Ellobius* que le rang générique que leur avait donné BAIRD semble absolument justifié. La parenté avec *Ellobius* est attestée, non seulement par des caractères numériques exceptionnels (17/<34), mais encore par des hétérochromosomes de type inusité chez les Euthériens et, enfin, du point de vue morphologique, par l'accentuation de la tendance à la vie souterraine: « *Chilotus*... is very closely related to *Microtus*, but it is somewhat modified for more fossorial habits » (HINTON, 1926). Cytologiquement, *Chilotus* est beaucoup plus près d'*Ellobius* que de n'importe quel *Microtus* et c'est maintenant entre

ceux-ci et celui-là qu'un « missing-link » chromosomique est à trouver.

Il n'est pas douteux que ces données cytologiques seraient compatibles avec d'autres reconstitutions phylétiques: certains auteurs estiment que *Pitymys* et *Microtus* ne forment qu'un seul genre et rien ne s'opposerait à ce que nous confondions les deux éventails robertsoniens en un seul. Les *Pedomys* peuvent être placés parmi les *Microtus* ou parmi les *Pitymys* où, chromosomiquement, ils s'incorporent aisément. Lors de leur découverte, les *Dolomys* ont été considérés comme des *Chionomys*: *C. (Microtus) nivalis* ayant exactement la formule de *D. bogdanovi*, cette assimilation ne saurait être combattue par des arguments d'ordre cytologique.

Par contre, la cytologie comparée ne saurait admettre un système qui ne tiendrait pas compte des points suivants, lesquels seront exposés sous forme de conclusions.

CONCLUSIONS

1. L'évolution des *Microti* s'est déroulée à partir de formes à 54 autosomes acrocentriques, le type d'attachement des hétérochromosomes étant variable. La formule primitive est donc 56/56 ou 56/58.

2. Les processus évolutifs ont abouti à des nombres diploïdes variables, le nombre de bras demeurant le plus souvent compris entre 52 et 58. L'importance prépondérante des fusions centriques apparaît donc nettement.

3. Peu d'espèces (3 sur 38) ont un **N. F.** supérieur à 58. Les processus de « fragmentation » sont donc rares. Deux de ces espèces sur trois sont de formule 62/62 et ne s'écartent donc que faiblement de la limite supérieure des valeurs modales (58). Par contre, la troisième (*M. longicaudus*) nous montre la formation de métacentriques par un processus qui doit être l'inversion péricentrique, moins fréquente encore que la « fragmentation ».

4. Symétriquement au cas de *M. longicaudus* qui ouvre la possibilité évolutive de *Microti* à nombres diploïdes et fondamentaux élevés, par dislocation robertsonienne des **V** d'origine péricentrique, le complexe *Chilotus-Ellobius* nous montre des formes

très aberrantes à nombres caractéristiques très bas ($17/<34$) et à détermination sexuelle particulière. L'étroite parenté des deux genres atteste l'origine chilotienne des *Ellobii* dont les rapports avec les *Microtinae* sont ainsi fixés.

5. La formation de chromosomes métacentriques s'est accomplie, chez les *Microti*, selon une direction parfaitement claire: $2I \rightarrow 1V$.

6. Le principe du changement homologue de WHITE s'applique d'une manière très générale.

7. Le présent travail renferme la description des chromosomes de *Lemmus lemmus*, *Phenacomys ungava*, *Microtus mexicanus*, *Chilotus oregoni* et complète les données relatives à *Ellobius lutescens*: chez ce dernier, $2N = 17$ dans les deux sexes. Chez *Chilotus* la digamétie est probablement de type **X-O**, **X-X**.

BIBLIOGRAPHIE

- CROSS, J. C. 1931. *A comparative study of the chromosomes of rodents*. Journ. Morph., 52, 373-396.
- ELLERMAN, J. R. 1940/41, 49. *The families and genera of living rodents*. Trust. Brit. Mus., London.
- ELLERMAN, J. R. and T. C. S. MORRISON-SCOTT, 1951. *Checklist of palaearctic and indian mammals*. Trust. Brit. Mus., London.
- HALL, E. R. and E. L. COCKRUM, 1953. *A synopsis of the north-american microtine rodents*. Univ. Kansas Publ., 5, 373-498.
- HEIM DE BALSAC, H. et R. GUISLAIN, 1955. *Evolution et spéciation des campagnols du genre Arvicola en territoire français*. Mammalia, 19, 367-390.
- HINTON, M. A. C. 1926. *Monograph of the voles and lemmings (Microtinae) living and extinct*. Trust. Brit. Mus., London.
- KRETZOÏ, M. 1955. *Dolomys and Ondatra*. Act. Geol. Acad. Sc. Hungar., 3, 347-355.
- MAKINO, S. 1949. *A chromosomal survey in some asiatic species of the Muridae, with special regard to the relationship of the chromosomes upon taxonomy*. Cytologia, 15, 153-160.
- 1950. *Studies on murine chromosomes*. VI. *Morphology of the sex—chromosomes in two species of Microtus*. Annot. Zool. Jap., 23, 63-68.
- 1953. *Chromosome numbers of some american rodents*. Science (Lancaster, Pa.), 118, 3073.

- MATTHEY, R. 1947. *Quelques formules chromosomiales*. Sc. Genet., 3, 23-32.
- 1949. *Les chromosomes des Vertébrés*. Ed. Rouge, Lausanne.
- 1950. *Les chromosomes sexuels géants de Microtus agrestis L.* Cellule, 53, 161-184.
- 1951. *La formule chromosomique de Microtus orcadensis Mill.* R. S. Zool., 58, 201-213.
- 1952. *Chromosomes de Muridae (Microtinae et Cricetinae)*. Chromosoma, 5, 113-138.
- 1953. *Les chromosomes des Muridae*. R. S. Zool., 60, 225-283.
- 1953 a. *La formule chromosomique et le problème de la détermination du sexe chez Ellobius lutescens Thomas*. Arch. J. Klaus Stift., 28, 65-73.
- 1954. *Nouvelles recherches sur les chromosomes des Muridae*. Caryologia, 6, 1-44.
- 1955. *Nouveaux documents sur les chromosomes des Muridae. Problèmes de cytologie comparée et de taxonomie chez les Microtinae*. R. S. Zool., 62, 163-206.
- 1956. *Nouveaux apports à la cytologie comparée des rongeurs*. Chromosoma, 7, 670-692.
- 1956 a. *Cytologie chromosomique comparée et systématique des Muridae*. Mammalia, 20, 93-123.
- 1956 b. *Cytologie comparée des Muridae. L'origine des Ellobii*. Experientia, 12, 337.
- MILLER, G. S. 1912. *Catalogue of the mammals of Western Europe*. Trust. Brit. Mus., London.
- MULDAL, S. 1950. *A list of Vertebrates observed at Bayfordbury*. J. Innes Hort. Inst. Ann. Rep., 41, 39-41.
- OGUMA, K. 1937. *Absence of the Y-chromosome in the vole Microtus montebelli Edw. with supplementary remarks on the sex-chromosomes of Evotomys and Apodemus*. Cytologia (Fujii jub. vol.), 796-808.
- SIMPSON, G. G. 1945. *The principles of classification and a classification of mammals*. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 85, 1-350.
- TATEISHI, S. 1937. *Chromosomes of Microtinae* (en japonais). Zool. Mag., 49, 1-2.
- WHITE, M. J. D. 1945. *Animal cytology and evolution*. Cambridge.
- ZIMMERMANN, K. 1955. *Die Gattung Arvicola Lac. im System der Microtinae*. Säugetierkundl. Mitt., 3, 110-112.
-



Revision du matériel herpétologique du Cameroun, étudié par A. Monard

par

Jean-Luc PERRET

(Institut de Zoologie, université de Neuchâtel)
Professeur au Collège de Foulassi, Cameroun

et

Robert MERTENS

Directeur du Musée de Senckenberg, Frankfurt, Allemagne

Pour la récente étude¹ des cent-quatre espèces d'Amphibiens et de Reptiles que l'un de nous (J.-L. P.) a récoltées au Cameroun de 1952 à 1955, nous avons pu utiliser, pour comparaison, le matériel camerounais récolté par la Mission scientifique suisse, dirigée par le Dr A. Monard. Ce matériel est déposé en grande majorité au Musée d'histoire naturelle de La Chaux-de-Fonds; quelques doublets font partie des collections du Muséum d'histoire naturelle de Genève. Nous remercions vivement le professeur W. Lanz, directeur du musée de La Chaux-de-Fonds, et le Dr V. Aellen, conservateur des Vertébrés au muséum de Genève, du prêt de cette intéressante collection. Nos remerciements vont aussi au Dr H. W. Parker, du British Museum, qui a bien voulu examiner les Cécilies et un *Xenopus*. Les Amphibiens et les Reptiles de la mission suisse ont fait l'objet de deux articles de A. MONARD (1949, 1951); le premier contient la description de deux espèces de sauriens qui ne sont pas revisées ici. En 1952, P. L. DEKEYSER et A. VILLIERS (*Bull. Inst. Fr. Afr. Noire*, 14: 1122), dans une critique du deuxième travail de MONARD, relèvent l'emploi d'une nomenclature désuète et citent la synonymie de *Meizodon regularis*

¹ Sous presse in *Bull. Inst. Fr. Afr. Noire*, A, 19, 1957.

Fischer = *M. coronatum* (Schlegel). L'examen du matériel lui-même nous a révélé d'autres synonymies ou déterminations erronées que nous avons jugé utile de signaler. Précisons encore que l'étude des *Agama* a été confiée au spécialiste, le Dr F. W. Braestrup, de Copenhague, et que nous ne pouvons nous prononcer définitivement sur quelques formes peu sûres des genres *Mabuya* et *Hyporolius*.

DISCUSSION

Chamaeleon senegalensis v. *tibatiensis* Monard (p. 141¹).

Cette forme de Tibati, décrite par MONARD comme une race de *Chamaeleo senegalensis*, n'est en réalité rien d'autre que *Chamaeleo laevigatus* Gray. Cette forme soudanaise et orientale est ainsi nouvelle pour le Cameroun et nous pensons qu'il s'agit d'une bonne espèce et non d'une race de *senegalensis*. Nous avons examiné un spécimen de Bafia, Cameroun, SMF 52528, de la collection PERRET, ainsi qu'un autre exemplaire de l'Uganda, SMF 16204, qui sont identiques au matériel MONARD. Toutefois nous devons préciser que tous ces spécimens diffèrent légèrement de *laevigatus* typique par un faible sinus mollement arrondi qui sépare le sommet du casque et l'arête dorsale. (Pas de sinus chez *laevigatus* typique.) Si du nouveau matériel nous amène à distinguer une fois une sous-espèce occidentale de *laevigatus*, alors le nom de *tibatiensis* pourrait lui être attribué.

Lycophidion capense (p. 158).

L'exemplaire de Bindjal n° 1093 est en réalité un *Lycophidion semicinctum* Duméril et Bibron, dont la coloration de jeunesse est fortement assombrie. Ce spécimen appartient ainsi à la même espèce, correctement déterminée par MONARD, n° 1353 de Sakdjé (p. 159). La même constatation peut être faite pour l'exemplaire de Dipikar, n° 321.

Parmi les *Lycophidion*, MONARD cite un *L. laterale* également de Bindjal que nous trouvons en trop mauvais état pour être sûrement déterminé.

¹ L'indication des pages se rapporte au travail de MONARD, 1951.

Chlorophis hoplogaster (p. 159).

L'exemplaire n° 745 a bien deux labiales bordant l'œil, ce qui est un caractère tout à fait occasionnel chez *Chlorophis irregularis* *irregularis* (Leach), espèce à laquelle nous le rapportons. D'ailleurs, *C. hoplogaster*, espèce du sud de l'Afrique, ne s'étend certainement pas dans les régions nord-camerounaises.

Meizodon coronata v. *camerunensis* Monard (p. 161).

Cette nouvelle variété décrite sur un exemplaire de Konn n° 560, comme une forme de passage entre *coronatum* et *regularis* ne peut être qu'un synonyme de plus de *Meizodon coronatum* (Schlegel). A la demande de A. Loveridge, V. Aellen avait déjà examiné cet exemplaire et constaté que la queue ayant été amputée (la cicatrice est bien visible), le nombre des sous-caudales ne peut être invoqué comme caractère distinctif; il le considérait aussi comme un *M. coronata* typique.

Meizodon regularis (p. 161).

Cette espèce n'est pas admise par MONARD comme synonyme de *Meizodon coronata* (Schlegel), alors que des auteurs faisant autorité l'ont reconnue comme telle. Déjà SCHMIDT (1923: 88) pense que *regularis* est référible à *coronata*. LOVERIDGE (1936a: 253, 254) l'a définitivement démontré.

Psammophis sibilans sibilans (p. 164).

Le petit Colubridé de Tibati, n° 679, a une anale entière et par là est sûrement un *Psammophis phillipsii* (Hallowell). Cette dernière espèce se trouve dans certaines contrées à côté de *sibilans* et malgré leur ressemblance, nous les considérons comme des espèces distinctes.

Atractaspis watsoni var. *reiensis* Monard (p. 166).

Nous déterminons le type de cette variété comme un *Atractaspis microlepidota micropholis* Günther, forme du Soudan occidental et

du Nord-Nigéria. Les caractères mis en évidence par MONARD pour la définition de sa variété sont en partie compris dans les limites de l'espèce, données par LAURENT (1950: 6). Il faudrait plus d'un spécimen camerounais pour contester ou admettre la race décrite par MONARD.

Xenopus laevis (p. 172).

Dans la détermination des *X. laevis* de MONARD, nos 763 de Tibati, 932, 941, 1070 de Ngaouyanga, 1124, 1125 de Bangouvé, 1277, 1287 de Sakdjé, nous sommes surpris, avec le Dr Parker qui a examiné aussi ce matériel, de constater que la race n'est pas distinguable de celle d'Afrique du Sud, soit: *Xenopus laevis laevis* (Daudin). Vu que ce matériel provient de localités variées et relativement éloignées l'une de l'autre, nous ne pensons pas que cette forme ait été introduite dans le Nord-Cameroun (pour les tests de grossesse, par exemple) comme le supposait le Dr Parker.

Bufo camerunensis camerunensis (p. 173).

Nous avons pu attribuer le petit exemplaire de Mabiogo, n° 278, à *Bufo funereus gracilipes* Boulenger sans hésitation, grâce au matériel de comparaison fraîchement récolté par l'un de nous (J.-L. P.) au Cameroun. L'emploi de la nomenclature trinomiale est justifiée par la découverte et l'observation d'une forme naine de *B. funereus* qui a été décrite par BOULENGER sous le nom de *B. gracilipes* (1899: 276) de Benito, Guinée espagnole. Nous pensons même que *B. gracilipes* pourrait être une espèce propre et nous attendons du matériel plus nombreux pour nous prononcer définitivement sur la réhabilitation de cette espèce.

Bufo funereus (p. 173).

Le petit exemplaire desséché et en mauvais état qu'est le n° 1555, provenant de Rei-Bouba, n'est pas déterminable avec sûreté. En tous cas ce n'est pas *B. funereus*. Avec sa tête plus large que longue il se rapproche de *B. fuliginatus* Witte (?).

Kassina benueana Monard (p. 175).

Le type de cette espèce, n° 1077, de Ngaouyanga, est encore un unique exemplaire. Nous n'avons aucun doute quant à l'appartenance de ce spécimen à l'espèce *K. senegalensis* (Duméril et Bibron). Les caractères donnés par MONARD pour son espèce *benueana* entrent dans les limites de variation de *senegalensis*.

Hyperolius guttulatus picturatus (p. 177).

Les ♀♀ de cette rainette provenant de Ngaouyanga, nos 1182, 1339, 1352, sont identiques à *Hyperolius pallidus* Mertens dont la position systématique n'est pas encore claire. Nous ne sommes pas sûr du ♂, n° 1357, de Sakdjé, rapporté par MONARD à cette espèce.

Rana (Pyxicephalus) reiensis Monard (p. 181).

L'examen du type nous amène à croire que cette forme n'est qu'une race de *Rana adspersa* Bibron qui, comme MONARD lui-même le propose dans le texte suivant la description de sa découverte, doit prendre le nom de *Rana (Pyxicephalus) adspersa reiensis* Monard.

Scotobleps oxyrhynchus (p. 183).

Une comparaison de l'exemplaire de MONARD, n° 256, d'Akak, avec de nombreux spécimens provenant tous du Cameroun appartenant à l'espèce *Scotobleps gabonicus* Boulenger, ne laisse distinguer aucune différence spécifique. La synonymie de *Astylosternus oxyrhynchus* Nieden et de *Scotobleps gabonicus* Boulenger, signalée par LOVERIDGE (1936b: 86) nous paraît plus que probable.

Herpele squalostoma juv. ? (p. 184).

Après un échange de correspondance avec V. Aellen, alors directeur du Musée d'histoire naturelle de La Chaux-de-Fonds, H. W. Parker a revu les Cécilies récoltées au Cameroun par la mission suisse: le spécimen n° 531 b de Ndikiniméki, ainsi qu'un autre pris au même lieu et à la même date (avril 1947) — non cité par MONARD — sont des *Idiocranium russeli* Parker. Le spécimen

n° 494, que MONARD rapporte, avec quelques doutes, à *Herpele squalostoma*, appartient effectivement à cette espèce.

Geotrypetes petersii (p. 185).

Comme PARKER (1936:98) l'a montré, *Uraeotyphlus seraphini* et *Geotrypetes petersii* sont synonymes et deux formes, l'une occidentale et l'autre plus orientale, sont distinguables chez *G. seraphini*. Le matériel de MONARD appartient à *Geotrypetes seraphini seraphini* (A. Duméril), typique dans la région Cameroun-Gabon.

OUVRAGES CITÉS

- BOULENGER, G. A. 1899. *Description of new Batrachians in the Collection of British Museum (Natural History)*. Ann. Mag. nat. Hist. (7) 3: 273-277.
- LAURENT, R. 1950. *Revision du genre Atractaspis A. Smith*. Mém. Inst. Sci. nat. Belg. (2) 38: 1-49.
- LOVERIDGE, A. 1936a. *Scientific Results of an Expedition to Rain Forest Region in Eastern Africa. V. Reptiles*. Bull. Mus. comp. Zool. Harvard 79: 209-337.
- 1936b. *African Reptiles and Amphibians in Field Museum of Natural History*. Zool. Ser. Field Mus. Chicago 22: 1-111.
- MONARD, A. 1949. *Vertébrés nouveaux du Cameroun*. Rev. suisse Zool. 56: 731-745.
- 1951. *Reptiles et Batraciens*. In: *Résultats de la mission zoologique suisse au Cameroun*. Mém. Inst. Fr. Afr. Noire (centre Cameroun), sér. Sci. nat. 1: 123-185.
- PARKER, H. W. 1936. *Amphibians from Liberia and the Gold Coast*. Zool. Meded. Leiden 19: 87-102.
- SCHMIDT, K. P. 1923. *Contributions to the herpetology of the Belgian Congo, based on the collection of the American Museum Congo Expedition 1909-1915. Part II. Snakes*. Bull. Amer. Mus. nat. Hist. 49: 1-146.
-

Découverte de la femelle de *Chamaeleo quadricornis* Tornier et note sur les Caméléons du Cameroun

par

Jean-Luc PERRET

(Institut de Zoologie, université de Neuchâtel)
Professeur au Collège de Foullassi, Cameroun

Avec 2 figures dans le texte.

Il y a dans les musées allemands de Berlin et de Frankfurt (Senckenberg) deux espèces de caméléons connus jusqu'ici par trois spécimens seulement. Ce sont: *Chamaeleo pfefferi* Tornier (*Zool. Anz.* 23: 21-23, 1900), dont le type et unique exemplaire récolté provient de Nyassôssô, mont Nkosso, partie sud du massif du Manengouba, à la frontière des deux Camerouns. Nous ne l'avons pas encore retrouvé. Puis *Chamaeleo quadricornis* Tornier (*Zool. Anz.* 22: 399-400, 1899), dont deux exemplaires ♂♂ sont conservés, l'un à Berlin, l'autre à Senckenberg où il a été échangé. Cette dernière espèce n'a pas de lieu d'origine précis mais seulement: « Intérieur du Cameroun », Tornier (1899: 400). Nous venons de redécouvrir l'espèce et pouvons ainsi contribuer en plusieurs points à la connaissance de ce rare Chamaeleonidae. Nous avons capturé deux jeunes ♀♀ et un jeune ♂¹, ensemble, sur un buisson bas, à 30 km à l'ouest de Nkongsamba, soit sur un flanc est du massif du Manengouba, en forêt de montagne.

Le ♂, bien que n'ayant que 70 mm du museau à l'anus (140 mm chez le type), est très aisément reconnaissable par la crête gulaire

¹ Nos 920.68, 920.69 et 920.70 (♂) du Muséum d'Histoire naturelle de Genève.

serratulée, formée de 6 à 7 longues écailles triangulaires aplaties latéralement, pointues mais souples, si caractéristiques de l'espèce et qui sont déjà bien développées chez notre jeune exemplaire (longueur des plus longues écailles au menton: 4 mm, soit le demi-



FIG. 1.

Chamaeleo quadricornis Torn.

En haut: ♂ juv. (n° 920.70); au milieu et en bas: ♀♀ juv. (nos 920.68 et 920.69, Muséum Genève). Phot. J.-L. Perret.

diamètre oculaire). Cette crête se continue sans interruption jusqu'à l'anus mais en diminuant d'importance. Dès le milieu du ventre elle est insignifiante (écailles de 1 mm, puis de $\frac{1}{2}$ mm). L'écaillure hétérogène comprend: des écailles plates arrondies (1,5 mm de diamètre), régulièrement réparties sur tout le corps, séparées par la granulation de fond; des granules de moyenne grandeur plus ou moins aplatis sur la partie externe des membres; des granules subquadrangulaires très fins sur la queue, en stries transversales; et enfin, de chaque côté de la tête, une zone post-

oculaire lisse formée d'écailles polygonales très plates. Cette écaillure correspond parfaitement au spécimen de Senckenberg que nous avons examiné, il y a six mois, lors de notre passage dans ce musée. Les cornes, par contre, sont encore très peu développées.



FIG. 2.

Chamaeleo quadricornis Torn.

♀♀ juv.; en haut: n° 920.69; en bas: n° 920.68, Muséum Genève.

Phot. J.-L. Perret.

La paire antérieure, la plus grande, n'a que 3 mm de longueur; on distingue à la loupe 3 anneaux. La seconde paire est à peine distinguable des autres écailles tuberculeuses de l'arête nasale. La crête ptéronoïde dorsale est également faiblement développée; son prolongement caudal est typique mais tombe obliquement au lieu de presque verticalement sur la queue.

Nous notons chez ce jeune ♂ les différences suivantes d'avec le type, différences que nous attribuons à l'état immature de notre exemplaire: longueur de la fente buccale plus courte que la distance commissure-sommet du casque (14 mm et 18 mm) au lieu de

subégale chez le type; casque faiblement relevé en arrière, au lieu de fortement relevé en arrière chez le type; arrière du casque formant un angle aigu avec le début de la crête dorsale, au lieu d'un angle obtu chez le cotype de Senckenberg; enfin une faible arête pariétale formée de 4 à 5 écailles carénées, au lieu d'absence d'arête pariétale chez le type. Précisons que cette faible arête pariétale part du sommet du casque et s'étend sur un tiers environ de la longueur de ce dernier.

Mensurations: museau-anus = 70 mm; queue = 80 mm (type: 140 et 175).

DESCRIPTION DE LA ♀ DE *Chamaeleo quadricornis* Tornier.

Casque faiblement relevé en arrière. Arête nasale et arête occipitale à peu près dans le prolongement l'une de l'autre, séparées par l'arc de cercle de l'arête supraciliaire. Arête temporale en ligne droite partant un peu au-dessus du milieu de l'orbite pour atteindre le sommet du casque. Une arête pariétale présente s'étendant du quart aux trois quarts de la longueur du casque, sans atteindre donc ni l'une ni l'autre des extrémités. Deux écailles saillantes coniques derrière la narine sont à l'extrémité d'une arête qui court en arrière d'abord parallèlement aux labiales puis contourne l'orbite jusqu'à l'interception avec l'arête temporale. Fente buccale plus courte que la distance commissure-sommet du casque. Une fine crête gulaire formée d'un rang d'écailles coniques foncées (les plus longues écailles ayant 1 mm de long). Cette crête gulaire s'étend jusqu'au niveau des épaules où elle devient assez brusquement blanche, formée alors d'écailles plus courtes, en mamelons arrondis resserrés irrégulièrement sur deux ou trois rangs. Dans la région ventrale, ces écailles blanches deviennent à nouveau subconiques et plus pointues, puis, plus courtes, elles passent par-dessus l'anus pour occuper encore la base de la queue. Une crête ptéronoïde dorsale sinuée, serratulée, formée d'une dizaine de larges dents arrondies à subrectangulaires, séparées par des sinus obtus allant en décroissant jusqu'à disparition complète à la base du dos. Ils réapparaissent sur la base de la queue où 7 à 8 petites dents subtriangulaires arrondies sont marquées. Ecaillure hétérogène, mais avec très peu d'écailles plates arrondies situées en avant du corps. Les deux ou trois plus grandes sur une ligne au milieu de

chaque flanc. Quelques granules de grandeur moyenne, subaplatis, sur la partie externe des membres ainsi que parsemés à la base de la crête ptéronoïde dorsale. Pas de cornes; écailles rostrales à peine plus fortes et plus coniques que celles de l'arête latérale.

Mensurations de l'exemplaire décrit (n° 920.68): museau-anus = 74 mm, queue = 68 mm; puis de l'exemplaire plus petit (n° 920.69): museau-anus = 72 mm, queue = 54 mm.

DIMORPHISME SEXUEL.

Il est souvent considérable chez les Chamaeleonidae. Chez *Chamaeleo quadricornis*, autant que nous permettent d'en juger nos jeunes exemplaires ♀♀, il y a peu de caractères saillants communs aux deux sexes, et il nous a fallu capturer les trois spécimens ♂ et ♀♀ ensemble et être frappé par leur aspect général pour être convaincu de leur identité. La coloration passe du vert au vert brun sombre, presque noirâtre. Voici une comparaison mettant en relief le dimorphisme sexuel.

♀	♂
Pas de cornes.	Deux paires de cornes annelées.
Une arête pariétale s'étendant du quart aux trois quarts du casque.	Pas d'arête pariétale ou une faible arête pariétale sur le tiers sommital chez le jeune ♂.
Ecaillure peu hétérogène avec quelques écailles plates arrondies seulement.	Ecaillure très hétérogène avec des écailles plates arrondies nombreuses sur tout le corps.
Une crête ptéronoïde dorsale sinuée-serratulée.	Une crête ptéronoïde dorsale entière.
Une faible crête dorso-caudale serratulée, sans ressaut.	Une haute crête dorso-caudale entière, abrupte en arrière.
Une fine crête gulaire formée d'écailles coniques.	Une forte crête gulaire formée d'écailles aplaties latéralement.
Une crête ventrale blanche formée d'abord d'écailles mamelonnées puis subconiques jusqu'au-delà de l'anus.	Une crête ventrale foncée, serratulée, de même nature que la crête gulaire mais plus courte et allant en décroissant jusqu'à l'anus.
Queue plus courte que la distance museau-anus.	Queue plus longue que la distance museau-anus.

REMARQUE.

Comme il apparaît que, dans *C. quadricornis*, la présence d'une raie blanche ventrale ne s'observe que chez la ♀, ce caractère n'est plus suffisamment distinctif pour séparer les espèces dans les tables

de déterminations. De plus, des changements et des découvertes faites récemment, comme la description de *C. montium grafi* Mertens (MERTENS, 1938), la réhabilitation spécifique de *C. quilensis* Bocage et de *C. roperi* Boulenger (WITTE, 1953), la capture de *C. laevigatus* Gray, sa réhabilitation spécifique (PERRET et MERTENS, 1957) rendent nécessaire la refonte des anciens arrangements synoptiques tels que ceux de NIEDEN (1910) ou de WERNER (1911).

Dans la table que nous donnons à la suite nous distinguons quatorze formes camerounaises de caméléons, dont douze nous sont connues par du matériel frais ou d'origine. Seuls *C. quilensis* et *C. dilepis* nous paraissent encore confusément identifiés au Cameroun. L. MÜLLER (1910) cite bien *C. dilepis* Leach de Dibongo-Edéa, mais il l'indique comme synonyme de *C. quilensis* ! Aucun autre auteur n'indique des localités précises pour ces formes. Quant au *C. dilepis roperi* Blgr. de NIEDEN (1910), nous le considérons comme identique à la forme forestière de *C. gracilis* Hallowell. La série des *C. gracilis* de forêt de la collection MONARD (1951) correspond bien à la figure que donne NIEDEN (1910) de *C. dilepis roperi*, qui d'ailleurs est une forme orientale (!) et une bonne espèce.

TABLE DE DÉTERMINATION DES CAMÉLÉONS DU CAMEROUN ¹

Chamaeleo Laurenti 1768.

- 1 (14) Formes de savane. Pas de crête ptéronoïde charnue dorsale. Pas de cornes chez le ♂. Une crête gulaire au moins.
- 2 (13) Ecaillure des côtés du corps homogène; granules égaux à subégaux. Crêtes gulaire et ventrale présentes.
- 3 (8) Pas trace de lobes occipitaux.
- 4 (5) Casque fortement relevé en arrière, en forme de toit avec une forte arête pariétale. Arête dorsale faiblement marquée au début du dos. Crête ventrale pas toujours distincte. Queue plus longue que le corps. Zones sahélienne et soudanienne. Localités: Garoua, Yola (NIEDEN, 1910)
C. africanus Laurenti
(= *basiliscus* Cope)

¹ Cette clé ne comprend pas *Brookesia s. spectrum* (Buchholz) (= *Rhampholeon spectrum*), seule espèce du genre au Cameroun, distincte par sa petite taille et ses griffes à deux pointes.

- 5 (4) Casque abaissé en arrière.
- 6 (7) Casque très abaissé dont l'arête pariétale courbe se prolonge sans interruption avec l'arête dorsale ou en est séparé par un très faible sinus (1 mm de profondeur) mollement arrondi. Arête dorsale convexe lisse ou très légèrement serratulée au début du dos. Queue plus courte que le corps. Zone soudanienne et guinéenne. Localités: Tibati (MONARD, 1951; Bafia, Pama (PERRET et MERTENS, 1957) . . . *C. laevigatus* Gray
(= *senegalensis tibatensis* Monard)
- 7 (6) Casque abaissé mais tout de même saillant de 4 à 5 mm au-dessus de l'arête dorsale et tombant verticalement sur elle. Faible arête pariétale. Arête dorsale finement serratulée. Queue presque aussi longue que le corps. Zones soudanienne et guinéenne. Localités: Dodo, Laro, Lamourde (NIEDEN, 1910); Koubadgé, Ngaouyanga, Bangouvé, Rei-Bouba (MONARD, 1951)
C. senegalensis Daudin
- 8 (3) Des lobes occipitaux présents (médiocres ou développés).
- 9 (10) Lobes occipitaux rudimentaires, non mobiles. Casque abaissé plat. Arête pariétale faible ou indistincte. Arête dorsale serratulée. Queue aussi longue ou plus courte que le corps. Zones soudanienne et guinéenne (aussi en forêt). Localités: Dodo, Contcha (NIEDEN, 1910); Ndikiniméki, Ngaouyanga, Bangouvé (MONARD, 1951)
C. gracilis Hallowell
- 10 (9) Lobes occipitaux développés, mobiles et souples.
- 11 (12) Lobes occipitaux moyennement développés, mobiles, non en contact sur la ligne médiane, derrière le casque. Casque abaissé plat. Arête pariétale sur la moitié sommitale du casque. Arête dorsale serratulée. Queue plus courte que le corps. Zones soudanienne et guinéenne. Localités: Dibongo (L. MÜLLER, 1910); ?? Sud Cameroun (WERNER, 1911); Cameroun (ANGEL, 1930)
C. quilensis Bocage
(= *parvilobus* Boulenger)

- 12 (11) Lobes occipitaux très développés, mobiles, en contact sur la ligne médiane derrière le casque. Casque abaissé plat. Arête pariétale faible, indistincte. Arête dorsale serratulée. Queue égale ou plus longue que le corps. Zones soudanienne et guinéenne. Localités: ?? Cameroun (WERNER, 1911) *C. dilepis* Leach
- 13 (2) Ecaillure hétérogène sur les côtés du corps. Présence d'écailles plates arrondies beaucoup plus grandes que les granules. Casque modérément relevé en arrière tombant verticalement sur l'arête dorsale. Faible arête pariétale. Pas de lobes occipitaux. Arête dorsale à double rang d'écailles. Queue variable, plus courte, égale ou plus longue que le corps. Zone de savane de montagne. Localités: Tcha (Bekom), mont Gendero, District de Bamenda (NIEDEN, 1910); Kichong, Tchigaderi, Ngulu (MERTENS, 1940); Djuttitsa, mont Bambouto (ANGEL, 1940) *C. wiedersheimi* Nieden
(= *serratus* Mertens)
- 14 (1) Formes forestières. Exceptés *C. camerunensis* et *C. gracilis*, ces formes ont une crête ptéronoïde, charnue, dorsale, ou le ♂ corné, ou ces deux caractères à la fois.
- 15 (18) Ecaillure homogène. Pas de crête ptéronoïde, charnue, dorsale.
- 16 (17) Lobes occipitaux développés, souples et mobiles. Trois cornes chez le ♂. Casque abaissé en arrière, saillant de 2 à 3 mm au-dessus de l'arête dorsale. Arête pariétale droite faisant un angle obtus avec l'arête dorsale. Celle-ci est formée de deux rangs de granules. Queue plus longue que le corps. Localités: Limbe, Johann-Albrecht-Höhe, Bonge, Victoria, Bonjongo, Yaoundé, Bipindi, Ebolowa (NIEDEN, 1910); Mukonjé (L. MÜLLER, 1910); Nwini (ANGEL, 1930); Mubenge (MERTENS, 1938); Foulassi, Ngam, Njôm, Mfulaja (PERRET et MERTENS, 1957)
C. owenii Gray
- 17 (16) Lobes occipitaux rudimentaires, non mobiles. Pas de cornes. Casque abaissé, plat. Arête pariétale faible ou indistincte. Arête dorsale serratulée. Queue aussi longue

ou plus courte que le corps. Localités: Bipindi, Longji (NIEDEN, 1910); Kribi, Mabiogo, Campo, Akak (MONARD, 1951). (Aussi en savane.) *C. gracilis* Hallowell

- 18 (15) Ecaillure hétérogène sur les côtés du corps. Présence d'écailles plates arrondies.
- 19 (20) Pas de crête ptéronoïde, charnue, dorsale. Pas de cornes chez le ♂. Casque modestement relevé en arrière, à pointe aiguë, tombant verticalement sur la nuque. Pas d'arête pariétale. Arête dorsale légèrement ondulée. Queue et membres plus grêles et plus longs que chez *C. montium* dont il se rapproche. Localités: Dibongo-Edéa, Bibundi (L. MÜLLER, 1910) *C. camerunensis* L. Müller
- 20 (19) Une crête ptéronoïde, charnue, dorsale.
- 21 (26) Pas de crête gulaire, ni de ventrale.
- 22 (25) ♂ avec deux cornes nasales et la crête ptéronoïde plus haute sur la base de la queue. ♀ avec deux cornules nasales à peine saillantes et pas de crête ptéronoïde.
- 23 (24) ♂ avec deux cornes nasales courbes et divergentes à la base ou droites, divergentes. Casque plat, relevé en arrière, à pointe mousse. Pas d'arête pariétale. Crête ptéronoïde dorsale entière à légèrement sinuée en avant (MERTENS, 1938) ou profondément sinuée-dentée (PERRET et MERTENS, 1957). Queue plus courte que le corps. Localités: Bonge, Mapanja, Victoria, Bonjongo (NIEDEN, 1910; MERTENS, 1938); Buéa (ANGEL, 1930); Ndoungué (MONARD, 1951); Nkongsamba (PERRET et MERTENS, 1957)
C. montium montium Buchholz
- 24 (23) ♂ avec deux cornes nasales droites, serrées, parallèles ou même un peu convergentes à l'extrémité. Une race de *C. montium* qui se différencie encore par un casque plus étroit, par la queue qui est soit plus courte soit plus longue que le corps. Localités: Mongonge (MERTENS, 1938) *C. montium grafi* Mertens
- 25 (22) Pas de cornes mais une haute crête ptéronoïde chez les deux sexes. Cette crête s'abaisse progressivement sur la base de la queue. Casque fortement relevé en arrière,

plat, à sommet assez pointu. Pas d'arête pariétale. Queue nettement plus courte que le corps. Localités: Longji, Kribi, Bonge, Itoki, Ndian, Ekundu, Johann-Albrecht-Höhe, Banjo-Bamenda, Bipindi, Ebolowa, Yaoundé (NIEDEN, 1910); Mubenge, Likomba, Mossake Ekona (MERTENS, 1938); Campo, Akak (MONARD, 1951); Ngam, Foulassi, Njôm, Kombé, Mfulaja, Nkumajap (PERRET et MERTENS, 1957) *C. cristatus* Stutchbury

26 (21) Au moins une crête gulaire.

27 (28) Chez le ♂, une forte crête gulaire de la couleur du corps (sombre), formée d'écailles souples, triangulaires, pointues, aplaties latéralement. Une crête ventrale suit, formée d'écailles identiques mais plus courtes et allant en décroissant jusqu'à l'anus. Chez la ♀, une fine crête gulaire d'écailles coniques sombres suivie, changeant brusquement, par une crête ventrale blanche formée d'écailles mamelonnées à subconiques plus ou moins sur deux ou trois rangs, se continuant au-delà de l'anus. Casque fortement relevé en arrière chez le ♂, moins chez la ♀. Une arête pariétale peu saillante chez la ♀ et le jeune ♂ où elle est plus courte. Pas d'arête pariétale chez le ♂ adulte. Une crête ptéronoïde dorsale entière, plus haute sur la base de la queue chez le ♂ tandis qu'elle est sinuée-serratulée et peu élevée sur la base de la queue chez la ♀. Queue plus longue que le corps chez le ♂, plus courte chez la ♀. Quatre cornes annelées nasales chez le ♂. Localité: mont Manengouba, à 30 km à l'ouest de Nkongsamba (PERRET, 1957, ce travail)

C. quadricornis Tornier

28 (27) Une crête gulaire plus modeste formée d'écailles coniques espacées. Pas de crête ventrale. Casque moyennement relevé en arrière, tombant verticalement sur la nuque. Faible arête pariétale. Une crête ptéronoïde dorsale peu élevée, sinuée-dentée, se continuant sur près de la moitié de la queue où la dentelure est beaucoup plus fine. Queue plus longue que le corps. Localité: Nyassôssô, mont Nkosso, sud du massif du Manengouba (TORNIER, 1900) *C. pfefferi* Tornier

CONCLUSION.

Il est intéressant de remarquer que, sur quatorze formes distinguées, sept sont de la savane et sept sont forestières, excepté *C. gracilis* qui vit dans les deux zones. Six espèces paraissent endémiques, soit: *C. wiedersheimi*, *C. camerunensis*, *C. montium montium*, *C. montium grafi*, *C. quadricornis*, *C. pfefferi*. Deux sont de la zone Cameroun-Gabon-Congo belge, ce sont *C. owenii* et *C. cristatus*. Les six restants, tous de la savane, ont une distribution plus large, subéquatoriale et tropicale.



Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Keimzellen und somatischen Zellen im Ovar von *Drosophila melanogaster*

von

Nelly BUCHER

Mit 34 Textabbildungen und 4 Tabellen.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung und Problemstellung	92
B. Material und Technik	95
C. Die imaginale Differenzierung des normalen Ovars	96
1. Das Vorpuppen- und Puppenovar	96
a) Material und Methode	97
b) Die Entwicklung des somatischen Ovargewebes	97
c) Oocytogenese	101
2. Follikeldifferenzierung	110
D. Die imaginale Differenzierung total oder partiell agametischer Ovarien	114
1. Entfernung der Keimzellen bei verpuppungsreifen Larven	114
a) Material und Technik	115
b) Äussere Entwicklungsleistung	117
c) Histologie	121
α) Total agametische Ovarien	121
β) Partiiell agametische Ovarien	128
d) Zusammenfassung und Diskussion	138

	Seite
2. Ausschaltung der Keimzellen bei Vorpuppen und Puppen	146
a) Material und Technik	147
b) Bestrahlung im Alter von 7-8 h nach der Pupariumbildung (Vorpuppen)	149
c) Bestrahlung im Alter von 24 h nach der Pupariumbildung	151
d) Bestrahlungen im Alter von 12 und 17½ h nach der Pupariumbildung	158
e) Zusammenfassung und Ergebnis von a-d	164
f) Bestrahlung im Alter von 3 Tagen nach der Pupariumbildung	168
E. Schlussübersicht	182
F. Ergebnisse	184
G. Literatur	186

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG *

Durch Zerstörung des Polplasmas von *Drosophila*-Eiern mit ultravioletter Licht konnte GEIGY (1931) für *Drosophila* nachweisen, dass die Urkeimzellen mit den aus dem Polplasma hervorgehenden Polzellen identisch und somit die Keimzellen extra-gonadaler Herkunft sind. Die Gonaden von *Drosophila* sind damit Organe, deren Gewebelemente räumlich und zeitlich getrennt entstehen. Die Pol- oder Urkeimzellen werden frühembryonal, und zwar noch vor der Bildung des Blastoderms, am hintern Pol des Eies aus dem Eiplasma ausgesondert (HUETTNER 1923), während die Anlage des Gonadensomas erst nach der Gastrulation, etwa in der Mitte der Embryonalzeit, im Mesoderm gebildet wird. Die Polzellen, die als Repräsentanten der Keimbahn keinem der Somablätter angehören, gelangen während der Embryonalentwicklung

* Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. HADORN möchte ich für Unterstützung und Interesse, mit denen er meine Arbeit stets gefördert hat, herzlich danken. Herrn Prof. Dr. H. R. SCHINZ, in dessen Röntgeninstitut ich die Bestrahlungen durchführen konnte und Herrn Prof. Dr. A. LINDER, Genf, der mich bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse beriet, bin ich sehr zu Dank verpflichtet. Herrn Prof. Dr. H. GLOOR, Leiden, Frau PD. Dr. H. FRITZ-NIGGLI, Zürich, sowie Herrn Dr. J. GALLERA, Genf, danke ich für manche Anregung.

ins Entoderm und sind erst um die Mitte der Embryonalzeit in jenem Mesodermbereich zu finden, der die somatische Gonadenanlage liefert (GEIGY 1931, POULSON 1937, HUETTNER 1940, ABOIM 1945 u.a.).

In den Gonaden treffen sich demzufolge Keimbahn und Soma zu gemeinsamer Entwicklungsleistung. Es interessiert nun besonders, wie bei solch heterogener Zusammensetzung die harmonische Entwicklung des Organes gewährleistet wird. Zunächst konnten GEIGY (1931) und ABOIM (1945) zeigen, dass die Bildung des Gonadenkörpers nicht an die Existenz von Keimzellen gebunden ist. Der mesodermale Anteil der Gonade entwickelt sich — mit einer einzigen Einschränkung — auch ohne die Keimzellen typisch und in normaler Zeit. MARGR. VOGT (1942) wies nach, dass die Entwicklung der Gonaden und vieler anderer Organe bei *Drosophila* unter der Kontrolle der Ringdrüse vor sich geht. Die Ringdrüse sorgt danach als zentrales Korrelationszentrum für die harmonische Entwicklung des Gesamtorganismus.

Die soeben erwähnte Einschränkung betrifft das Ovar. Im Gegensatz zum agametischen Hoden, dessen Zellelemente sich vollständig differenzieren, verläuft im Ovar die Entwicklung nur bis zum Zeitpunkt der Follikelbildung in der zweiten Hälfte der Puppenzeit normal. Die Follikelbildung selber und die damit verbundene Weiterentwicklung der Epithelialzellen zum hochschichtigen Follikelepithel unterbleiben dagegen in den agametischen Ovarien. GEIGY und ABOIM schliessen daraus, dass, entgegen der übrigen Gonadenentwicklung, für die Follikelbildung die Gegenwart von Keimzellen unerlässlich ist. Zum gleichen Postulat kommt auch GLOOR (1943) auf Grund der Verhältnisse bei den sterilen Ovarien der Letalmutante *lgl*. Daraus ergibt sich nun die Vermutung, dass im Ovar ausser einer hormonalen Steuerung durch die Ringdrüse auch interne Korrelationsmechanismen, bei denen die Keimzellen eine Rolle spielen, die harmonische Entwicklung sichern.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, über diese Vorgänge Genaueres zu erfahren. Die experimentellen Eingriffe von GEIGY und ABOIM beschränken sich auf die frühesten Stadien der Eientwicklung. Sie führen zur Bildung primär steriler Gonaden, die nie mit Keimzellen in Kontakt kommen. Daher können solche primär agametischen Gonaden keine nähern Aufschlüsse

über die Einwirkung der Keimzellen auf das somatische Gewebe geben. Zur Analyse dieser Vorgänge musste versucht werden, die Keimzellen erst nach einer gewissen Entwicklungszeit innerhalb der Gonade zu entfernen. E. HADORN gelang es 1947 (unveröffentlicht), aus freisezierten Ovarien verpuppungsreifer Larven die Keimzellen durch Ausquetschen mit einer Nadel zu entfernen und diese „secundär agametischen Ovarien“ durch Implantation in eine Wirtslarve zur Entwicklung zu bringen. In Weiterführung dieser Versuche wurde in der vorliegenden Arbeit die Ausschaltung der Keimzellen auch bei verschiedenen Stadien der Puppenruhe erreicht. Bei Larvenovarien waren neben der von HADORN verwendeten Technik auch *in vitro*-Bestrahlung der Ovarien mit ultravioletttem Licht wirksam. Für die Puppenovarien wurde eine Methode zur Röntgenbestrahlung ausgearbeitet, da aus technischen Gründen hier nur noch eine Behandlung *in situ* möglich war. Diesen Versuchen musste eine Untersuchung der nymphalen Ovarentwicklung vorangehen. Bei GUYÉNOT und NAVILLE (1929, 1933), GEIGY (1931), KERKIS (1933), ABOIM (1945) u.a. finden sich darüber zwar zum Teil sehr ausführliche Angaben, doch wurden sie unter anderen Voraussetzungen und an anderen *Drosophila*-stämmen gewonnen und konnten deshalb nicht ohne weiteres übernommen werden. Ausserdem mussten einige Widersprüche zwischen den Angaben verschiedener Autoren geklärt werden. Als Grundlage zu unseren Experimenten fehlte vor allem eine auf die Entwicklung des somatischen Ovargewebes bezogene Darstellung des zeitlichen Ablaufes der Oocytogenese. Die diesbezüglichen Ergebnisse sind in einem besonderen Abschnitt dem experimentellen Teil dieser Arbeit vorangestellt. Sie lieferten die Grundlagen, nach denen für die experimentellen Eingriffe entwicklungsphysiologisch besonders geeignete Stadien der Ovar- und der Gesamtentwicklung gewählt und nach denen in den behandelten Ovarien die Entwicklungsleistung des Restgewebes beurteilt werden konnten. Dabei standen die folgenden Fragen im Vordergrund:

1. In welchem Zeitpunkt setzt die Beeinflussung der Ovarentwicklung durch die Keimzellen ein ?

2. Wirken die Keimzellen aktiv, oder nur durch ihre räumliche Gegenwart auf das somatische Ovargewebe ein ?

3. Steht das somatische Gewebe von einem gewissen Zeitpunkt an unter dauernder oder nur periodischer Beeinflussung durch die Keimzellen?

B. MATERIAL UND TECHNIK

Material: Zu allen Versuchen wurde der Wildstamm „Berlin-Inzucht“ von *Drosophila melanogaster* Meig verwendet. „Berlin-Inzucht“ ist ein seit Jahren im Zoologischen Institut der Universität Zürich gezüchteter Wildstamm.

Die Zuchttemperatur beträgt überall $25 \pm \frac{1}{4}^{\circ}\text{C}$.

Das Futter war nach folgenden Proportionen zusammengesetzt: 125 g Mais, 60 g Zucker, 7,5 g Agar-Agar, 9,4 g Trockenhefe auf 940 g Wasser.

Histologische Technik: Das *Drosophila*-Ovar ist schwierig zu schneiden und zu färben. Zudem handelt es sich bei unsern Experimenten um eine grosse Zahl kleinster Objekte. Es sei daher die hier verwendete Methode, welche auf rationelle Weise zu guten Resultaten führte, genauer angegeben. Als geeignetstes Fixierungsmittel erwies sich für unsere Zwecke Bouin. Die Ovarien wurden mindestens 12 h lang fixiert und während ca 24 h in mehrfach gewechseltem 70% Alkohol gründlich ausgewaschen. Darauf wurden 10–15 Ovarien zusammen in einen Tropfen 70% Alkohol auf einem Objektträger gebracht und orientiert. Kurz vor dem Eintrocknen wurden sie mit einem nicht zu heissen Tropfen Agarlösung (1,2%) flach überzogen und wo nötig unter der Binocularlupe vor dem Erstarren des Agars nachorientiert. Die erstarrte Agarplatte wurde mit Hilfe einer Rasierklinge zum Härten in 70% Alkohol geschoben und über steigenden Alkohol, Methylbenzoat, Benzol in Paraffin eingebettet (Alkoholstufen je $\frac{1}{2}$ h, absolutus 1 h, $3\times$ Methylbenzoat mindestens bis zum Untersinken, Benzol-Benzolparaffin zusammen $\frac{1}{4}$ h). Der Aufenthalt im flüssigen Paraffin sollte bei dotterhaltigen Ovarien nicht weniger als 4 Tg. dauern. Das Schnittergebnis wird umso besser, je länger die Objekte im flüssigen Paraffin verbleiben, sofern die Temperatur 60°C nicht erreicht.

Das vorangehende Einbetten in Agar hat verschiedene Vorteile: Es können viele Objekte gemeinsam in einem einzigen Arbeitsgang durch die verschiedenen Chemikalien geführt werden, ohne dass der Verlust kleiner Objekte zu riskieren ist. — Die Agarplatte ist im Paraffinblock gut sichtbar, so dass an ihr die Schnitttrichtung bestimmt werden kann. Damit ist auch bei kleinsten, im Paraffin nicht mehr sichtbaren Objekten, die zudem auch bei der Erstellung der Blöcke nicht wie die Agarplättchen in einer bestimmten Lage fixiert werden könnten, orientiertes Schneiden möglich. — Hartes Paraffin (Schm. 58 und mehr $^{\circ}\text{C}$), wie es zum Schneiden dotterhaltigen Materials nötig ist, wird durch den

Agar so geschmeidig, dass es selbst bei Ovarien mit reifen Eiern mühelos gelingt, bis zu 10 μ dicke Bänder zu schneiden. Agar hat gegenüber dem in solchen Fällen sonst verwendeten Celloidin den Vorteil, dass die Objekte sofort nach dem Fixieren darin eingebettet werden können, wodurch Verluste verhindert werden und Zeit gespart wird. Der Agar dringt zwar nicht wie das Celloidin in die Objekte ein, weshalb nicht die gleiche Festigkeit erreicht wird. Dennoch erhielten auch reife Ovarien genügend Halt im Paraffin.

Gefärbt wurde mit saurem Hämalaun n. MAYER mit Chromotrop als Gegenfärbung. *Drosophila*ovarien haben die unangenehme Eigenschaft, dass sich das Zytoplasma mit Kernfarbstoffen klumpig überfärbt, und zwar lange bevor eine genügende Kernfärbung erreicht ist. Dies kann verhindert werden, wenn der Färbung eine Ribonucleasebehandlung vorgeschaltet wird. Die Hydrolyse wurde mit zentrifugiertem und während 10' auf 90° C erhitztem Speichel vorgenommen (Kristallisierte Ribonuclease war zu Beginn dieser Arbeit in der Schweiz noch nicht erhältlich.). Hydrolysedauer 2 h bei 50° C. Derart vorbehandelte Ovarien zeigen mit Hämalaun und Chromotrop eine klare Kern- und Plasmafärbung.

Weitere Untersuchungsmethoden werden im Zusammenhang mit den Einzelproblemen beschrieben.

C. DIE IMAGINALE DIFFERENZIERUNG DES NORMALEN OVARS

1. DAS VORPUPPEN- UND PUPPENOVAR.

Die Entwicklung der somatischen Teile des Puppenovars wurde von ABOIM (1945) sehr eingehend beschrieben. GUYÉNOT und NAVILLE (1929, 1933) haben ebenso ausführlich die Zytologie der gonialen Teilungen und der Reifeteilungen bearbeitet. Die Verhältnisse beim Wildstamm „Berlin-Inzucht“ von *Drosophila melanogaster* stimmen bis auf wenige Abweichungen, die weiter unten diskutiert werden sollen, mit den von diesen Autoren erhobenen Befunden überein. Es ist deshalb nicht nötig, hier mehr als einen Abriss der Differenzierung des Puppenovars bei „Berlin-Inzucht“ zu geben. Etwas ausführlicher wird dagegen der zeitliche Ablauf der Oocytogenese im Rahmen der somatischen Differenzierung und in Beziehung zum Puppenalter behandelt, da meines Wissens noch nichts darüber veröffentlicht worden ist.

a) *Material und Methode.*

Zur Gewinnung von Vorpuppen und Puppen bekannten Alters wurden 12 h-Gelege von rund 20 Weibchen aus gut genährten Zuchten (s. S. 115) und im besten Legealter bei $25 \pm \frac{1}{4}^{\circ}\text{C}$ in einer Standard-schale auf Futter mit reichlichem Frischhefezusatz aufgezogen. Von den sich verpuppenden Larven wurden diejenigen gesammelt, deren Puparium schon erhärtet, aber noch rein weiss war. Die Erhärtung erfolgt bei Berlin-Inzucht 10', der erste Anflug von Bräunung 25—30' nach der Pupariumbildung. Auf diese Weise erhält man somit Tiere, die auf $\pm 10'$ genau das gleiche Alter haben. Es ist nicht empfehlenswert, die Tiere vor dem Erhärten des Pupariums zu sammeln, da sie bis dahin noch leicht durch Berühren in ihrer Entwicklung gestört werden können. Aus den einzelnen Schalen wurden nur solange Tiere entnommen, als die Futterbedingungen darin gut waren. Die gesammelten Puppen wurden in Schälchen auf feuchtem Filtrierpapier weiter gezüchtet, wobei darauf zu achten war, dass die Stigmen frei lagen. Die Sektion erfolgte bis zum Alter von 27 h nach der Pupariumbildung in einstündigen Abständen, später in 2- und 12-stündigen Intervallen. Die gleichzeitig gesammelten Tiere einer Zuchtschale wurden auf viele Untersuchungsserien verschiedenen Alters verteilt, um für die ganze Untersuchungsreihe möglichst homogene Voraussetzungen zu schaffen.

Die Ovarien wurden im 0,74% NaCl-Lösung herauspräpariert und in Orcein-Essigsäure gequetscht. Auf diese Weise erhaltene Kernbilder stehen an Klarheit denen von Dauerpräparaten nicht nach. Solche wurden zur Verifizierung neben den Quetschpräparaten zugezogen. Die Präparation dauerte für jede Serie höchstens 10', so dass mit Einberechnung des Fehlers von $\pm 10'$, der beim Sammeln entsteht, das Alter der Ovarien auf $\pm 15'$ genau angegeben werden kann.

b) *Die Entwicklung des somatischen Ovargewebes.*

Im Moment der Pupariumbildung zeigt das Ovar bei „Berlin-Inzucht“ eben erst die Anlage der Terminalfilamente. Die zum grossen Teil schon abgeflachten und geldrollenartig übereinander geschichteten Zellen bilden die charakteristischen, gegen oben abgerundeten Kegel, die von einer Zellkappe überdacht, das distale Drittel des Ovars bilden (Abb. 1, T; 2a). Die Filamentzellen sind noch sehr breit. Sie haben etwa das Volumen der Oogonien (O). Diese liegen scheinbar ungeordnet und frei zwischen den Filamenten und dem Basalgewebe (B), welches das proximale Drittel des Ovars einnimmt.

Die Bildung des *Germaniums* erfolgt noch innerhalb der Vorpuppenzeit, d.h. vor Ausstülpung des Kopfes um die 11. Stunde nach der Pupariumbildung. Sie schreitet von den Filamenten aus-

gehend gegen basal zu fort. Die meisten Ovariolen sind 7 Stunden nach der Pupariumbildung (h.n.P.) basal geschlossen. Um diese Zeit liegen nur noch ganz vereinzelt Oogonien ausserhalb von

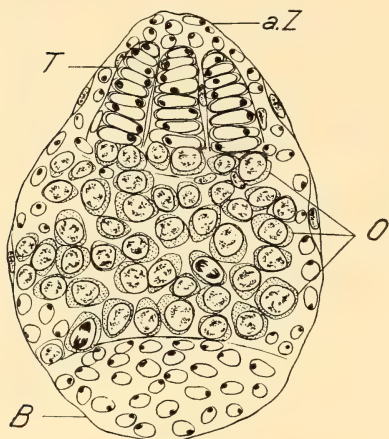


ABB. 1.

Junges Vorpuppen-Ovar
(halbschematisch).

a.Z apicale Zellkappe; B Basalgewebe;
O Oogonien; T Terminalfilamente.

Ovariolen. Das Ovariolenepithel, welches nach GEIGY (1931) wie die Terminalfilamente und die Basisstiele (s. anschliessend) aus Epithelialzellen besteht, erscheint als dünne Membran mit spärlichen Kernen; da und dort schieben sich spindelförmige Epithelialzellen zwischen die Keimzellen ein. Das Epithel behält sein Aussehen im Bereich des Germariums ständig bei und erfährt erst bei der Bildung der Follikel im Follikelbereich eine weitere Umgestaltung. Der Fuss der Ovariolen wird von einer kleinen Gruppe polygonaler Zellen gebildet (Abb. 2b), die das gleiche Aussehen wie die Zellen des Basalgewebes haben. Diese beiden Gewebe sind nicht deutlich gegeneinander abgegrenzt. Im Verlaufe der Entwicklung wächst diese Zellgruppe zum *Basisstiel* aus. Bei Ovarien im Alter von 20 h.n.P. bildet die Anlage des Basisstieles einen Kegel, der etwa halb so lang wie das Germarium ist (Abb. 2c). 24 h.n.P. ist sie zum rasch nach unten sich verjüngenden Stiel ausgewachsen, in dem die Zellen dachziegelartig in zwei Zeilen angeordnet sind. Der Basisstiel hat jetzt seine grösste Länge erreicht; er ist annähernd so lang wie Germarium und Terminalfilament zusammen (Abb. 2d). Während des zweiten Puppentages erfährt der Basisstiel keine merkliche Veränderung, er wird dann aber während des dritten Tages rasch reduziert. Zur Zeit, da der erste Follikel fertig abgeschnürt ist, findet sich vom Basisstiel nur noch ein dünner, einzellreihiger Faden, der knapp die Länge des Follikeldurchmessers hat. Zwölf Stunden später, d.h. drei Tg.n.P. besteht der Basisstiel nur noch aus wenigen hyalinen Zellen mit körnigen Überresten von Kernen (Abb. 2g). Die Entwicklung des Basisstieles nimmt damit

bei „Berlin-Inzucht“ einen andern Verlauf, als ihn BODENSTEIN (1950) für einen andern Wildstamm von *Dros. mel.* beschrieben hat. Nach seinen Angaben bleibt dort der Basisstiel erhalten und wird zur Röhre, durch welche die Eier in den Calyx austreten.

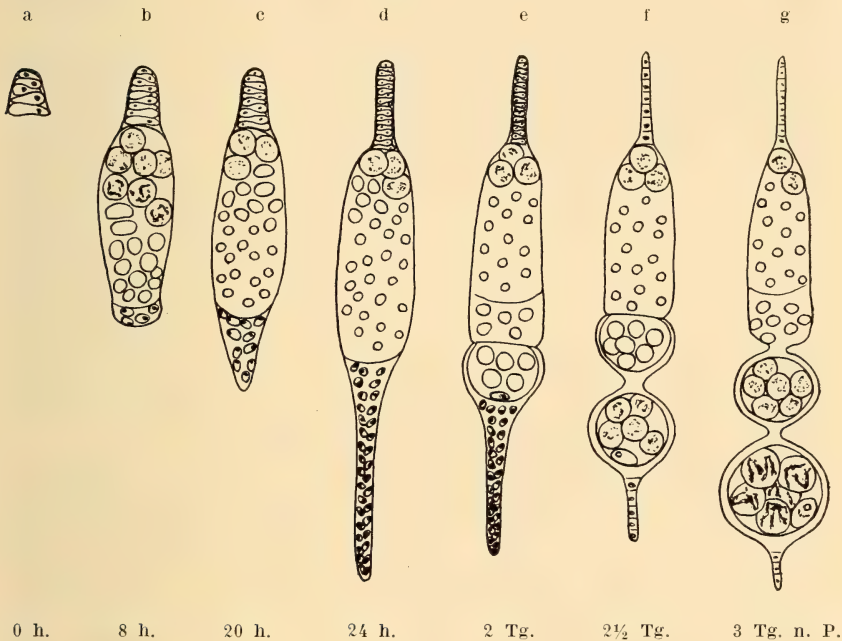


ABB. 2.

Schema der Oocytenogenese und der Ovariolen-Entwicklung (nach Quetschpräparaten zusammengestellt). a: Terminalfilament angelegt. b: Ovariolen geschlossen; Oocytenogenese basal begonnen, basal Kerne der Grössenklassen II und III, noch keine Oocyten I. c: Oocytenogenese basal in der Hauptsache abgeschlossen, basal Kerne der Grössenklasse I (Oocyten I); Basalstiel auswachsend. d: Oocytenogenese auch median grösstenteils abgeschlossen, basal und median Kerne der Grössenklasse I; Basalstiel voll ausgewachsen, Terminalfilament stark verschmälert. e: 1. Follikel bei vielen Ovariolen in Bildung, 2. Follikel angedeutet; ausser 2—5 Oogonien apical nur noch Kerne der Grössenklasse I, abgetrennte Oocyten I heranwachsend, Eikern des 1. Follikels im Ruhestadium der Prophase der RT I; Rückbildung des Basalstiels eingeleitet, Terminalfilament noch stärker verschmälert. f: 1. Follikel abgeschnürt, 2. Follikel in Bildung; Oocyten des 1. Follikels mit Ausnahme des Eikernes von Grösse und Aussehen der apicalen Oogonien; Basalstiel und Terminalfilament stark reduziert mit pyknotischen Kernen. g: 2. Follikel abgeschnürt, 3. Follikel angedeutet; Basalstiel fast vollständig verschwunden; Eikern des 1. Follikels heranwachsend, sonst unverändert, die andern Oocyten I des 1. Follikels mit pachytänartigen endomitotischen Chromosomen, diejenigen des 2. Follikels von Aussehen und Grösse der apicalen Oogonien.

Zeitangaben in Stunden bzw. Tagen nach der Pupariumbildung.

Im gleichen Masse, wie sich der Basisstiel verlängert und die Ovariolen heranwachsen, wird das Basisgewebe reduziert. Im „Birnenstadium“ (M. Vogt 1942) des Ovars, während der ersten 12 h.n.P., nimmt es $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ der Ovarlänge ein. Von diesem grossen Gewebekomplex ist nach $2\frac{1}{2}$ Tagen nur noch eine dünne, dem Calyx anliegende Zellschicht zu finden.

Das *Terminalfilament* macht eine ähnliche Entwicklung wie der Basisstiel durch. Während der ersten zwanzig Stunden verändert es sich wenig, wird dann aber rasch schmaler und streckt sich in die Länge. Mit 24 h.n.P. ist das Filament noch etwa halb so breit wie ursprünglich und bis zum Alter von 48 h.n.P. haben die Filamentzellen ungefähr $\frac{2}{3}$ ihrer anfänglichen Breite eingebüsst (Abb. 2d, e). Die charakteristische Zellgestalt wechselt dabei jedoch nicht. Erst in der ersten Hälfte des dritten Puppentages verändern sie ihr Aussehen. Sie bekommen eine länglich kantige Form und die Kerne kugeln sich ab. Nach drei Tagen besteht auch das Terminalfilament nur noch aus hyalinen Zellen mit pyknotischen Kernen ähnlich der Zellen des Basisstieles (Abb. 2f-g).

Die *Follikelbildung* setzt mit knapp 48 h.n.P. ein, indem basal in die Germarien einwandernde, spindelförmige Epithelialzellen die erste Sechzehnergruppe von Keimzellen von ihm abgrenzen. Mit 60 h.n.P. ist dieser Vorgang beendet und der erste Follikel durch einen kurzen, einzellreihigen Stiel vom Germarium getrennt. Das lockere, membranöse Ovariolenepithel hat sich dabei rund um den Follikel zum kubischen Follikelepithel zusammengeschlossen (Abb. 2 e-f). Gleichzeitig beginnt sich die Abtrennung des zweiten Follikels abzuzeichnen. Mit 72 h.n.P. ist auch dieser fertig gebildet und die Abtrennung des dritten Follikels hat begonnen (Abb. 2g).

Diese Zeiten stimmen mit den von ABOIM (1945) gefundenen gut überein, wenn man die im ganzen längere Entwicklungszeit berücksichtigt ($4\frac{1}{2}$ —5 Tg Puppenzeit bei der Zuchttemperatur von 24°C gegenüber von 4 Tg bei 25°C). Der einzige ins Gewicht fallende Unterschied betrifft den Abschluss der Ovariolenbildung, der nach ABOIM erst in vorgeschrittener Puppenzeit erfolgen soll, während nach unseren Feststellungen dieser Vorgang noch innerhalb der bis 11 h.n.P. dauernden Vorpuppenzeit beendet wird. Mit wenigen Ausnahmen sind 7 h.n.P. die Oogonien in die Ovariolen eingeschlossen. Dies entspricht auch der Erwartung, weil, wie wir später sehen werden, die Entwicklung der basal liegenden Oogonien

zu Oocyten I eben um diese Zeit einsetzt. Da dieser Umwandlungsprozess zuerst die basalen Oogonien erfasst und die höher liegenden erst anschliessend in streng aufsteigender Folge damit beginnen (s. S. 104), ist es wenig wahrscheinlich, dass die Ovariolen zu diesem Zeitpunkt basal noch offen sind und von dort her nachträglich weitere Oogonien eingegliedert werden. Bei ABOIM sind keine Angaben über die Entwicklung der Keimzellen zu finden. Man müsste annehmen, dass in seinem Material die Umwandlung der Oogonien zu Oocyten I auch viel später einsetzt, da die Ovariolen erst soviel später ausgebildet sind. Diese unterschiedlichen Befunde würden aber bedeuten, dass der Abschluss der Ovariolenbildung bei verschiedenen *melanogaster*-Stämmen in verschiedenen Metamorphosestadien stattfindet. Es darf hier jedoch nicht unerwähnt bleiben, dass wir selber zuerst anhand der Schnittpräparate glaubten, dass in der Vorpuppe noch keine fertigen Ovariolen vorhanden seien. Erst die Quetschpräparate liessen dies als Irrtum erkennen. Solange der Spalt zwischen den Ovariolen und dem interstitiellen Gewebe noch nicht besteht, ist es kaum möglich, die dünne Ovariolenmembran im Schnitt zu erkennen und zu verfolgen. Es wäre deshalb nicht erstaunlich, wenn auch ABOIM die Membran in den frühen Stadien entgangen wäre.

Die Angabe von KERKIS (1933), wonach schon zur Zeit der Pupariumbildung fertige Ovariolen zu finden seien, beruht, nach der Illustration in seiner Arbeit zu schliessen, auf einem Irrtum. Was auf dem photographierten Schnittbild eines vier Tage alten Larvenovars zu sehen ist, sind nicht fertige Ovariolen, sondern die sich bildenden Endfilamente (KERKIS 1933, Abb. 11, S. 507).

Unter diesen Umständen ist anzunehmen, dass der Abschluss der Ovariolenbildung bei *Dros. mel.* allgemein in die zweite Hälfte der Vorpuppenzeit fällt.

c) *Oocyto-genese*.

Kurz nach der Pupariumbildung ist der Mittelteil des Ovars von lauter grossen Oogonien angefüllt (nach KERKIS 1933 u.a. erreichen die Oogonien am vierten Larventag ihre maximale Grösse), deren Kerne ausser einem deutlichen Nucleolus kaum eine andere Struktur erkennen lassen. Im siebenstündigen Vorpuppenovar, d.h., zur Zeit, da die Ovariolenbildung abgeschlossen ist, weisen die Oogonienkerne noch die gleiche Grösse auf, nur zeigen

sie jetzt ein verändertes Aussehen. Der Nucleolus ist verschwunden, dagegen sind verwischt und schwach färbbar Chromosomen zu sehen. Die Oogonien sind aus der Interkinese in die Prophase eingetreten (Abb. 1, O). Das Aussehen der Chromosomen entspricht demjenigen, das GUYÉNOT und NAVILLE (1929, 1933) mit „prochromosomes effacés“ bezeichnen. Gleichartige Kerne sind in frisch gebildeten Follikeln wiederzufinden, und zwar enthält ein solcher Follikel 15 derartige Zellkerne neben einem basal liegenden, abgeflachten Kern, in dem unschwer der zukünftige Eikern zu erkennen ist (Abb. 2f). Es ist somit sicher, dass trotz des gleichen Aussehens hier nicht mehr Oogonien, sondern Oocyten I vorliegen. Wann ist nun diese Umwandlung erfolgt? Oder handelt es sich etwa schon bei den Keimzellen der siebenstündigen Vorpuppenovarien um Oocyten I? Da es für diese Frage, wie wir soeben gesehen haben, keine morphologische Entscheidung gibt, musste dazu der Zeitpunkt der Umwandlung selber erfasst werden.

Es ist bekannt (GUYÉNOT und NAVILLE 1929), dass die vier letzten oogonialen Teilungen, in deren Verlauf aus jeweils einer Oogonie 16 Schwesteröocyten entstehen, synchron ablaufen. Daher sind diese Teilungen daran zu erkennen, dass bei ihnen nicht wie bei den gewöhnlichen, der Oogonienvermehrung dienenden Teilungen, Einzel-Mitosen vorliegen, sondern dass man 2, 4 oder 8 nebeneinanderliegende Mitosen vorfindet. Die Wahrscheinlichkeit, dass solche Mitosengruppen zufällig auftreten, ist bei der schwachen Mitosetätigkeit der Keimzellen verschwindend klein (s. S. 104). Es galt also, die Zeitspanne zu finden, in der solche Mitosengruppen vorkommen.

Nun war anzunehmen, dass auch diese Umwandlung während des grossen Metamorphoseschubes des ersten Puppentages erfolge. Ebenso konnte man vermuten, dass die Oocytogenese erst nach beendeter Ovariolenbildung einsetzt, d.h. erst wenn die Oogonien in den Ovariolen eingeschlossen sind. Dies ist, wie auf S. 98 dargestellt wurde, zwischen 6—7 h.n.P. der Fall. Aus diesen Überlegungen heraus wurde für die Untersuchung wie folgt vorgegangen: Beginnend bei 7 h alten Vorpuppenovarien wurden Serien von Quetschpräparaten mit je einer Stunde Altersunterschied hergestellt und untersucht, mit welcher Häufigkeit im basalen, mittelständigen und apicalen Teil der Ovariolen Zweier-, Vierer- und Achtergruppen von Mitosen gefunden werden. Die Ergebnisse dieser

a.

b.

BEZIEHUNGEN ZWISCHEN KEIM- UND SOMATISCHEN ZELLEN

103

Alter in h.n.p.	Anzahl der Ovarien	Anzahl der Ovariole	Häufigkeit der Mitosegruppen in % der untersuchten Ovariole						Ausfallen der Kerngrößenklassen I—IV			Anzahl der Ovario- len	Anzahl der Ovarien		
			apical		mittelständig		basal		apical	mittelständig	basal				
			8er	4er	2er	8er	4er	2er							
7	41	150	—	—	—	—	—	—	—	—	—	IV	IV	63	5
8	41	173	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	43	194	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	42	221	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	43	170	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	43	182	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	44	215	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	42	185	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	43	204	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	43	237	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	44	184	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	42	157	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	41	204	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	42	194	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
21	43	213	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	44	199	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23	8	103	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24	43	208	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	43	216	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	43	206	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
27	43	242	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	9	159	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31	8	161	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Total:	278	4 278										I IV	I	113	8

a: Der zeitliche Ablauf der oocylogenetischen Teilungen. (Die eingeklammerten Werte bezeichnen Mitosen aus ungewöhnlich kurzen Ovariole.) b: Das Auftreten der verschiedenen Kerngrößenklassen im Verlauf der Oocylogenese. Die eingeklammerte Klasse ist spärlicher vertreten. Bei jedem Stadium ist in der unteren Zeile die Anzahl der Nachzügler-Ovariole mit basalen Oogonien angegeben.

Untersuchung sind in Tab. 1a zusammengefasst. Es konnten nur die Metaphasen und die Anaphasen für die Zählung berücksichtigt werden, weil nur diese Stadien mit Sicherheit zu zählen waren. Ebenso musste die erste der vier letzten Teilungen weggelassen werden, da diese nicht von den gewöhnlichen Oogonienteilungen unterschieden werden kann.

Bei siebenstündigen Vorpuppenovarien findet man basal und median Zweier-Mitosegruppen; höhere Gruppen kommen noch nicht vor. Schon eine Stunde später treten basal und median auch Vierer-Mitosegruppen auf und mit 9 h.n.P. sind basal die ersten Achter-Mitosegruppen zu sehen; dies bedeutet, dass 9 Stunden nach der Pupariumbildung die ersten Oocyten I zu erwarten sind. Die Achter-Mitosegruppen kommen im basalen Teil der Ovariolen bis zum Alter von 22 h und sporadisch auch noch in höherem Alter vor. Bei diesen sehr späten Achtermitosen handelt es sich z. T. deutlich um Nachzügler in aussergewöhnlich kurzen Ovariolen. Fast ebensolange kommen basal Vierer- und Zweier-Mitosegruppen vor. Aus der Tabelle 1a ist sodann zu entnehmen, dass die drei Mitosegruppen etwa im gleichen Intervall verschwinden, wie sie aufgetreten sind. Dieses stufenweise Auftreten und Verschwinden setzt sich kontinuierlich in den medianen und apicalen Teil der Ovariolen fort. 31 h.n.P. ist im Allgemeinen die Umwandlung der Oogonien in Oocyten I beendet. Nur apical bleibt in jeder Ovariole eine gewisse Anzahl von Oogonien (2—5) über die Nymphalzeit hinaus bis weit in die Imaginalzeit hinein erhalten.

Die Entwicklung der Oogonien zu Oocyten I erfolgt also nicht simultan, sondern ist ein zeitlich tief gestaffelter Prozess, der streng von basal nach apical fortschreitet. Dies kommt in der Tabelle 1a durch die diagonale Lage des Zahlenfeldes klar zum Ausdruck.

Die absoluten Anzahlen der gefundenen Mitosen sind sehr klein. 5‰ der Tab. 1a entsprechen ungefähr einer Mitosegruppe. Die Schwankungen der Häufigkeit innerhalb und zwischen den Gruppen müssen deshalb zum grossen Teil für zufällig, und durch Beobachtungsfehler bedingt, angesehen werden. Es war z.B. im basalen Teil viel schwieriger als im mittelständigen und apicalen, die Mitosegruppen zu zählen. Immerhin lässt sich doch in jeder

Kolonnen ein Häufigkeitsmaximum erkennen, und diese Maxima verschieben sich ungefähr parallel zum Auftreten der Mitosegruppen.

Dass trotz der kleinen Werte durch das Auszählen der Mitosegruppen die Gesamtentwicklung zuverlässig wiedergegeben wird, zeigt eine weitere Untersuchung, deren Resultate in Tab. 1b dargestellt sind. In den Quetschpräparaten ist deutlich zu erkennen, dass mit fortschreitender Oocytogenese die Grösse der Keimzellen von apical nach basal sprunghaft abnimmt. Zwar kann die Zellgrösse im Quetschpräparat nicht direkt beobachtet werden, da hier die Zellgrenzen nicht sichtbar sind. Gut zu sehen ist dagegen die Grössenabnahme der Kerne. Es konnten 4 Grössenklassen von Kernen (I—IV) unterschieden werden, deren jede etwa doppelt so gross wie die nächst kleinere ist. Da nun die kleinern Kerne zugleich näher zusammengedrückt sind, ist anzunehmen, dass die Kern-Plasma-Relation überall dieselbe ist, d.h. die ganzen Zellen kleiner geworden sind. Die Abnahme der Kerngrösse wird auch von GUYÉNOT und NAVILLE (1933) erwähnt. Mit ihr übereinstimmend, werden im Verlauf der letzten vier oogonialen Teilungen auch die Kernteilungsfiguren von Mitose zu Mitose kleiner. Die Chromosomen einer Achter-Mitosegruppe weisen nur noch einen Bruchteil der Länge von Chromosomen einer Einzel- oder Zweiermitose auf und die Spindeln bedecken ein viel kleineres Areal (Abb. 3).

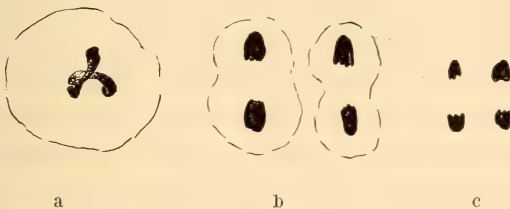


Abb. 3.

Abnahme der Chromosomengrösse im Verlauf der oocytogenetischen Teilungen. (Quetschpräparat.) a: Chromosomen aus der Metaphase einer Einzelmitose. b: 2 Anaphasen einer Vierer-Mitosegruppe. c: 2 Anaphasen einer Achter-Mitosegruppe. Zeichnung nach einer Mikrophoto. Vergr. ca 1150 \times .

Beim Vergleich von Tab. 1a mit Tab. 1b wird die Korrelation zwischen Kerngrösse und Stand der Oocytogenese deutlich. Ovarien siebenstündiger Vorpuppen mit basalen Zweier-Mitosegruppen enthalten mittelständig und

apical Kerne von Oogoniengrösse (Grössenklasse IV), basal dagegen in den meisten Ovariolen Kerne, die schätzungsweise nur halb so gross (Grössenklasse III) wie die mittelständig und apical liegenden sind. Um die Zeit der basalen Vierer-Mitosegruppen treten basal Gruppen von unter sich wieder gleichgrossen Kernen auf, die dem Anschein nach wiederum nur etwa die halbe Grösse (Grössenklasse II) der basalen Kerne aus den siebenstündigen Vorpuppenovarien aufweisen. Ovariolen im Stadium der basalen Achter-Mitosegruppen und damit auch der mittelständigen Vierer- und der apicalen Zweiergruppen, enthalten fast durchwegs vier Grössenklassen von Kernen. Auf die Gruppe der kleinsten Kerne (Grössenklasse I) am Grunde der Ovariolen, welche gegenüber den basalen Kernen der Ovariolen mit basalen Vierer-Mitosegruppen ebenfalls um die Hälfte verkleinert erscheinen, folgen ansteigend die Gruppen der Grössenklassen II—IV. Grössenklasse I enthält die kleinsten generativen Kerne der ganzen Nymphal- und Imaginalentwicklung. Ihr gleichzeitiges Auftreten mit den Achter-Mitosegruppen lässt in ihnen unschwer die Kerne frisch entstandener Oocyten I erkennen.

Im Gegensatz zu den vereinzelt gefundenen Mitosegruppen gelten die Angaben über die Kerngrösse stets für fast alle Ovariolen der untersuchten Ovarien (s. Tab. 1b). Berücksichtigt man dazu die Korrelation zwischen dem Auftreten der nächsthöheren Mitosegruppe und dem Erscheinen der nächstkleineren Kerngrössenklasse, so ergibt sich mit genügender Sicherheit, dass die wenigen Promille registrierter Mitosegruppen die Entwicklung des gesamten Keimmaterials gültig wiedergeben. Die geringe Anzahl an gefundenen Mitosegruppen muss auf dem raschen Ablauf der Mitosen beruhen.

Aus den gesammelten Daten kann approximativ die gemeinsame *Dauer von Meta- und Anaphase* errechnet werden. Basale Achter-Mitosegruppen wurden regelmässig während 13 h (9—22 h.n.P.) gefunden. Während dieser 13 h wurden insgesamt 2759 Ovariolen untersucht. In 54 davon wurden Meta- oder Anaphasen der Achter-Mitosegruppe festgestellt, d.h. in $\frac{1}{51}$ der möglichen Fälle. Um mit einer Wahrscheinlichkeit von $\frac{1}{51}$ erfasst zu werden, müsste die Dauer der beiden Mitosephasen $13 \times 60 : 51$ Minuten betragen, das sind 15,3'. Da zudem in dem mit basal bezeichneten Abschnitt die Mitosen von 2—3 Oogonien zusammengefasst werden, kann die Dauer von Metaphase und Anaphase annähernd mit

5—7,6' angegeben werden. Die analoge Berechnung, basierend auf der Anzahl der gefundenen Vierer-Mitosegruppen im basalen Abschnitt, ergibt eine Dauer von 4,5—6,8'. Nach diesem Ergebnis verlaufen die Teilungen der Keimzellen im nymphalen Ovar zwar rasch, aber immer noch langsamer als die extrem kurzen Furchungsmitosen, die nach RABINOWITZ (1941) in weniger als einer Minute beendet sind. Dagegen entspricht unsere, für die Keimzellen berechnete Dauer von Meta- und Anaphase sehr gut den Zeiten, die für andere Objekte gefunden wurden (s. Zusammenstellung bei SCHRADER 1953).

Um die Beobachtung über die *Abnahme der Kerngrösse* in den Keimzellen weiter zu stützen, wurden an Schnittpräparaten von Puppenovarien mit basalen Vierer- und Achtermitosegruppen auch Kerne gemessen.

An den Quetschpräparaten selber waren Messungen wegen der raschen Veränderlichkeit und der unterschiedlichen Bedingungen von Präparat zu Präparat zwecklos. Bei der Messung wurde je die Länge des längsten (*a*) und des kürzesten Durchmessers (*b*) der mehr oder weniger regelmässig elliptischen Kerne bestimmt. Daraus lässt sich annähern der Kerninhalt bestimmen, wenn der Kern als Rotationsellipsoid mit dem Inhalt $I = \frac{4}{3} \pi \times a/2 \times (b/2)^2$ aufgefasst wird. Um eine willkürliche Auswahl der Kerne zu vermeiden, wurden zuerst alle Kerne eines Ovariolschnittes ausgemessen; sobald auf diese Weise von einer der vier Grössenklassen 20 Kerne registriert waren, wurde diese Klasse bei den nachfolgenden Messungen weggelassen, sonst aber wiederum alle im Ovariolschnitt vorhandenen Kerne berücksichtigt. Auf diese Weise wurde der Inhalt von insgesamt 80 Kernen bestimmt.

Das Resultat dieser Untersuchung ist in Abb. 4 aufgezeichnet. Die Verteilung der Kerne auf vier Grössenklassen ist klar ersichtlich. Statistisch sind die Unterschiede zwischen den vier Klassen mit einem $P < 0,001$ (t-Test) alle stark gesichert. Die geschlossenste Verteilung weist die Klasse der kleinsten Kerne (I), d.h. die Klasse der Oocyten I, auf, obwohl hier infolge der Kleinheit der Kerne die grössten Messfehler zu erwarten sind. Die Verteilung der Werte in der Klasse IV (Oogoniengrösse), ist stark asymmetrisch. Dies ist hauptsächlich durch die maximale Kerngrösse in dieser Klasse bedingt. Die Prüfung der Homogenität der Klasse IV ergibt denn auch, dass im Gegensatz zu den Klassen I—III weniger als $\frac{2}{3}$ der Fehler innerhalb der Dispersion liegen. Nur wenn die beiden grössten Kerne nicht mit einbezogen werden, kann auch diese Klasse als

Normalverteilung betrachtet werden. Der statistische Nachweis des nach dem Augenschein angenommenen 1:2 Verhältnisses zwischen den einzelnen Kernklassen erfolgte mit dem t-Test, indem bei jeder Grössenklasse geprüft wurde, ob gegen die doppelten Werte der nächst niedrigeren Klasse ein Unterschied fehle. Nach dem selben Prinzip wurde mit der F-Verteilung zusätzlich getestet, ob zwischen den Klassen I—IV ein Grössenverhältnis 1:2:4:8, bzw. bei Weglassen der etwas suspekten Klasse IV zwischen I—III ein Grössenverhältnis 1:2:4 nachweisbar ist. Zu diesen beiden Verhältnissreihen bestehen jedoch stark gesicherte Unterschiede

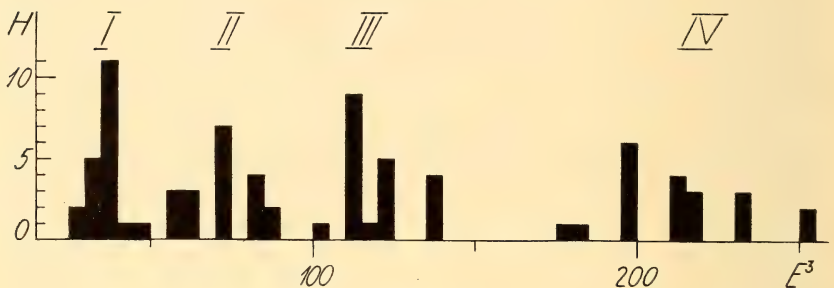


Abb. 4.

Relative Kerngrößen während der Oocyto-genese. Auf der Abszisse ist der relative Kerninhalt $I = a/2 \cdot (b/2)^2$ eingetragen. Das konstante Glied $4\pi/3$ wurde vernachlässigt. Masseinheit (E): $23\text{ E} = 10\text{ }\mu$. Die Ordinate gibt die Häufigkeit (H) der Kerne innerhalb einer Klassenbreite von 5 E^3 an. Weitere Erklärung im Text.

($P < 0,001$); dagegen besteht kein Unterschied zum 1:2 Verhältnis für die Paare I/II und II/III ($P = 0,8$ und $0,2$), während für das Paar III/IV der Unterschied zum 1:2 Verhältnis fraglich ($P = 0,024$) ist. Aus diesen Berechnungen kann geschlossen werden, dass zwischen den letzten oogonialen Teilungen zwar noch ein gewisses Kernwachstum erfolgt. Dieses reicht gerade aus, um für die ganze Teilungsreihe das 1:2:4:8 Verhältnis zu verwischen. Die Grössenzunahme nach erfolgter Teilung genügt jedoch nicht, um für die einzelnen Teilungsschritte einen signifikanten Unterschied gegenüber einem 1:2 Verhältnis bei den zwei direkt auseinander hervorgehenden Kerngruppen zu bewirken.

Es bleibt noch ein Problem zu erörtern. Die Umwandlung der Oogonien in Oocyten I erfolgt in vier Teilungsschritten. Diese Teilungen seien im folgenden als oocyto-genetische Umwandlungs-

teilungen und ihre Abkömmlinge als Umwandlungszellen bzw. -kerne bezeichnet. Aus den vier Umwandlungsteilungen wären nach den obigen Ergebnissen fünf Grössenklassen von generativen Kernen zu erwarten. Es sind jedoch nur deren vier gefunden worden. Eine davon, die Klasse IV, erwies sich nun, wie oben angegeben wurde (S. 107), als nicht homogen. Hier treten vereinzelt „zu grosse“ Kerne auf. Solche konnten auch in den Quetschpräparaten beobachtet werden; ebenso wurden gelegentlich auffallend grosse Einzelmitosen festgestellt. Andererseits wird von den verschiedenen Autoren übereinstimmend angegeben, dass die Oogonien zu Beginn der Puppenzeit ihre maximale Grösse erreicht haben (s. S. 101). Diese maximale Grösse entspricht dem Durchschnittswert unserer Grössenklasse IV. Diese Befunde legen den Schluss nahe, dass in der Grössenklasse IV zwei verschiedene Kerntypen vereinigt sind. Es hat den Anschein, als ob sich die Oogonien unmittelbar vor der ersten oocyto-genetischen Umwandlungsteilung plötzlich stark vergrössern und die ersten zwei Umwandlungskerne anschliessend wieder die ursprüngliche Oogoniengrösse erreichen. Damit wären unter der Grössenklasse IV Oogonienkerne und Kerne der ersten Umwandlungsteilung vereinigt und die folgenden Grössenklassen enthalten die Kerne von der zweiten Umwandlungsteilung an. Tatsächlich erscheinen die Kerne der Grössenklasse III denn auch zusammen mit der 2. Umwandlungsteilung (Zweier-Mitosegruppen, s. Tab. 1).

In der Zeit zwischen dem Abschluss der oocyto-genetischen Umwandlungsteilungen und der Bildung der Follikel differenzieren sich die 16 Oocyten I einer Umwandlungsgruppe zu einer Eizelle und 15 Nährzellen. Für die basalste Gruppe erfolgt dieser Vorgang zwischen 9 und 48 h.n.P. Im sich bildenden Follikel ist die Eizelle an ihrem flach elliptischen, blassen Kern schon von den zukünftigen Nährzellen unterscheidbar, deren Kerne kugelig sind und Pro-chromosomen enthalten. Der Eikern selber hat in diesem Moment bereits den 1. Teil der Prophase abgeschlossen und befindet sich seinem Aussehen nach in dem von GUYÉNOT und NAVILLE (1933) beschriebenen Ruhestadium der Prophase der 1. Reifeteilung. Bei diesem sind die Prophasechromosomen eng um den Nucleolus geschart, so dass der Kern abgesehen vom Nucleolus optisch leer erscheint. In der gleichen Zeit sind die Oocyten auch gewachsen. Zwei Tage n.P. beträgt der Kerndurchmesser wieder etwa die Hälfte des Durchmessers von Oogonienkernen, $2\frac{1}{2}$ Tage n.P. ist






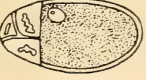
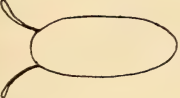
die Kerngrösse der Oogonien erreicht und 3 Tage n.P. betragen die Kerndurchmesser das Doppelte der Durchmesser von Oogonienkernen. Diese Angaben betreffen aber nur die Kerne der Nährzellen; der Eikern wächst viel weniger stark. Dem Aussehen nach verändert sich dieser bis zum Eintritt in die Metaphase der 1. Reifeteilung kurz vor der Befruchtungsreife nur wenig. Die Ruhephase-Prochromosomen kondensieren sich zu einem stark färbbaren Ring, der nach dem Verschwinden der Nucleoli als „Pseudonucleolus“ den Eikern kennzeichnet.

In den Nährzellen verdichten sich die anfänglichen „prochromosomes effacés“ (GUYÉNOT und NAVILLE 1933). 2½ Tage n.P. enthalten die Kerne Leptotän-bis Pachytänchromosomen, bei denen deutlich die Zusammensetzung aus mehreren Chromatiden ersichtlich ist. Nach PAINTER und REINDORP (1939) sind die Chromosomen von Nährzellen mit einem Kerndurchmesser von 8 μ (Oogonienkerne 7 μ) durch Endomitose bereits in 8 Chromatiden aufgespalten. Die Kerne im Basalfollikel des dreitägigen Puppenovars sind schon hochploid. Ihre Chromosomen haben das Aussehen von grossen Pachytänchromosomen. Wenig später lockern sich diese Chromatidenbündel auf und die Chromatiden jedes Chromosoms bilden ein mehr oder weniger viereckig-flächiges Gebilde, d.h. die Chromosomen sind etwa so breit wie lang geworden. In den reifen Nährzellen stehen diese Chromatidenvierecke unter sich noch in netzartiger Verbindung.

2. FOLLIKELDIFFERENZIERUNG.

Bildung und Differenzierung fällt für die Mehrzahl der Follikel in die Zeit des Imaginallebens. Nur für die drei untersten Follikel jeder Ovariole beginnt die Entwicklung noch innerhalb der Puppenruhe. Wie die Entwicklung der Keimzellen erfolgt auch die Follikeldifferenzierung von basal nach apical über lange Zeiträume gestaffelt. Die einzelnen Follikel einer Ovariole folgen sich bis zwei Tage nach dem Schlüpfen der Imago in einem Abstand von ziemlich genau einem halben Tag. Zur Charakterisierung ihrer Entwicklung können die Follikel dem Aussehen nach in 7 verschiedene Gruppen eingeteilt werden (Abb. 5):

ABBILDUNG 5.

	I Initial- follikel	II Kosetten- follikel	III Dotter- höhe 0	IV Dotter- höhe ¼	V Dotter- höhe ½	VI Dotter- höhe ¾	VII Dotter- höhe 1/1
							
Relative Eikerngrösse $\frac{a/2 \cdot (b/2)^2}{100}$	0,3-0,8	0,8-2,7	3,2-10,5	25,4-51,7*	110-187,2*	250-301,5*	—
Relative Follikel- epithelhöhe	3-5	7-9	9-12	18-25** (0-16)	27-35** (0)	9-20** (0)	0-3

Die verschiedenen Entwicklungsstadien der Follikel.

Eizelle punktiert. * Kerne zerschnitten; ** Werte im Bereich der Eizelle, eingeklammert die Werte im Bereich der Nährzellen. Die jungen Follikelstadien sind im Vergleich zu den älteren zu gross gezeichnet. 1 Masseinheit = 0,43 μ , 23 Masseinheiten = 10 μ . Weitere Erklärung im Text.

I. *Initialfollikel*, unmittelbar nach der Abtrennung vom Germarium. Die Follikelepithelzellen sind spindelförmig. Sie haben sich noch nicht zum kubischen Follikelepithel zusammengeschlossen, sondern liegen mehr oder weniger stark dachziegelartig übereinander. Die Keimzellen sind anscheinend regellos verteilt; immerhin ist die Eizelle stets basal auf dem Grund des Follikels zu finden.

II. *Rosettenfollikel*. Das typische kubische Follikelepithel ist gebildet. Der Follikel ist kugelförmig. Im Schnitt bilden die Keimzellen eine Rosette. Die Eizelle liegt basal zwischen den Nährzellen.

III. *Follikel mit Dotterhöhe 0*. Der Ausdruck „Dotterhöhe“ wurde von M. VOGT (1940 a) eingeführt und hier übernommen. Diese Follikel stehen zwischen den Rosettenfollikeln und den Follikeln mit morphologisch nachweisbarer Dotterproduktion: die Eizelle enthält noch keine Dotterschollen, und ihr eigentliches Grössenwachstum hat noch nicht begonnen. Sie liegt jedoch schon abgesondert unter- und ausserhalb der Nährzellen am Grund des in die Länge gewachsenen Follikels. Das Follikelepithel ist höher geworden.

IV. *Follikel mit $\frac{1}{4}$ Dotterhöhe*. Die mit Dotterschollen angefüllte Eizelle nimmt einen Viertel der Follikelhöhe ein. Die Eizelle ist bereits von einer dünnen Schicht Chorionmaterial umgeben. Auch die Nährzellen sind stark gewachsen. Das Follikelepithel im Bereich der Nährzellen ist in Regression, während es um die Eizelle weiter an Dicke zugenommen hat.

V. *Follikel mit $\frac{1}{2}$ Dotterhöhe*. Die Eizelle erfüllt den Follikel zur Hälfte. Das Follikelepithel um die Nährzellen ist zur dünnen Membran reduziert; im Bereich der Eizelle hat es seine maximale Höhe erreicht.

VI. *Follikel mit $\frac{3}{4}$ Dotterhöhe*. Die Reduktion des Follikelepithels hat auch um die Eizelle eingesetzt. Die Nährzellen sind stark geschrumpft, und ihre Kerne sind lappig geworden.

VII. *Follikel mit $\frac{1}{1}$ Dotterhöhe*. Das Ei mit seinen Filamenten ist gebildet. Die Reduktion des Follikelepithels und der Nährzellen ist vollständig. Der Eikern ist nicht mehr sichtbar. Nach HUETTNER (1924) ist auf diesem Stadium die Kernmembran aufgelöst, und der Eikern befindet sich in der Metaphase der RT I.

Die Stadien I—III werden von den basalsten Follikeln noch innerhalb der Puppenruhe durchlaufen. Dagegen setzt die Dotterbildung erst in den Ovarien der Imagines ein. Während seiner Entwicklung wird der Follikel um ein Vielfaches grösser, doch schwankt die Grösse innerhalb der einzelnen Gruppen je nach Lage und Raumangebot im Ovar sehr erheblich. Es wurde deshalb darauf verzichtet, die Gruppen auch durch die Follikelgrösse zu kennzeichnen, umso mehr, als sie im Schnitt nur ungenau bestimmt werden kann. Ideale Längsschnitte sind selten, und zudem ist im dicht gedrängten Ovarverband der Follikel meist gestaucht, so dass ein einwandfreies Messen nicht möglich ist. Besser eignen sich einzelne Follikelbestandteile zur metrischen Charakterisierung, so z.B. die Grösse der Eikerne und die Dicke des Follikelepithels. Die Werte dafür wurden in jeder Gruppe an 10 Follikeln aus 3—5 Ovarien bestimmt. In Abb. 5 sind sowohl für die Eikerngrösse wie auch für die Follikelepitheldicke je der niedrigste und der höchste der pro Gruppe gemessenen Werte eingetragen. Die obere Reihe enthält die Grössenbereiche der Eikerne. Zur Bestimmung der Eikerngrösse wurden analog den Messungen an den Oogonienkernen (s. S. 107) die längste (a) und die kürzeste Achse (b) des Eikernes gemessen und daraus der Inhalt des zugehörigen Rotationsellipsoides (konstantes Glied vernachlässigt) berechnet. Der bessern Übersichtlichkeit wegen enthält die Abbildung die durch 100 dividierten Inhaltswerte.

Wie aus Abb. 5 hervorgeht, nimmt der Eikern im Verlauf der Entwicklung um ein Mehrfaches seiner ursprünglichen Grösse zu. Jeder Follikelgruppe lässt sich eine bestimmte Grössenklasse des Eikerns zuordnen. Bei den untern Gruppen berühren sie sich allerdings, doch kommen nirgends Überschneidungen vor.

Ähnlich verhält es sich mit den Werten der Follikelepithelhöhen (untere Reihe). Die Dicke des Follikelepithels wurde an den Stellen gemessen, wo beim Durchdrehen der Mikrometerschraube keine optische Verlagerung des Epithels erfolgte, dieses also senkrecht durchgeschnitten worden ist. Auch hier gehört zu jeder Gruppe eine bestimmte Grössenklasse, die sich in keinem Fall mit einer andern überschneidet. Ein deutlicher Unterschied fehlt nur zwischen Gruppe II und III. Hier berühren sich die Extreme. Seine stärkste Ausbildung hat das Follikelepithel in der V. Gruppe erreicht; allerdings nur in der Zone, welche die Eizelle umgibt.

Um die Nährzellen ist das Epithel in diesem Stadium schon vollständig zurückgebildet. Zum Teil ist dieser Zustand sogar schon bei Gruppe IV erreicht (eingeklammerte Werte). In Gruppe VI hat die Rückbildung auch das Epithel um die Eizelle erfasst und in der VII. Gruppe ist das Follikelepithel kaum mehr sichtbar.

Auf diese Grössenverhältnisse innerhalb der Follikel kommen wir in einem spätern Kapitel (s. S. 132 ff.) nochmals zurück.

D. DIE IMAGINALE DIFFERENZIERUNG TOTAL ODER PARTIELL AGAMETISCHER OVARIEN

1. ENTFERNUNG DER KEIMZELLEN BEI VERPUPPUNGSREIFEN LARVEN.

Bei Ovarien verpuppungsreifer Larven sind gerade die ersten Anzeichen der imaginalen Differenzierung zu erkennen. Mit der Anlage der Terminalfilamente hat die Bildung der Ovariolen von apical her begonnen. Unter der Zone der Filamentanlagen liegen die zum grossen Teil voll herangewachsenen Oogonien frei im Zentrum des Ovars. Basal anschliessend folgt darauf eine Zone mit kleineren, somatischen Zellen (Abb. 1). Auf Grund dieser histologischen Befunde durfte man hoffen, die Keimzellen auf mechanischem Wege aus der weiblichen Gonade entfernen zu können.

Die Ausschaltung der Keimzellen wurde auf verschiedene Arten versucht. Die Experimente lassen sich in zwei Gruppen scheiden. Bei der einen Gruppe erlitten die Ovarien durch die Behandlung (Ausquetschen, Zerreissen, Aussaugen) eine grob mechanische Zerstörung ihres Zellgefüges. Ein Teil des Ovarinhaltes floss aus und es ist anzunehmen, dass eine gewisse Anzahl von Zellen verletzt wurde. Bei der andern Gruppe erfolgte keinerlei äussere Verletzung, da die Sterilisation durch Bestrahlen mit ultravioletttem Licht oder mit Röntgenstrahlen erreicht wurde. Für die erste Gruppe ist anzunehmen, dass neben Zellen, die zerstört wurden oder verloren gingen, ganze Zellgruppen von der Behandlung unberührt blieben. Dagegen waren in den Bestrahlungsexperimenten alle Zellen etwa gleichstark der Strahlenwirkung ausgesetzt. Trotz dieser Verschiedenheit in der Behandlungsart ergaben beide Gruppen qualitativ die gleichen Resultate, so dass diese Experimente gemeinsam dargestellt werden können.

a) *Material und Technik.*

Ausser bei den Röntgenexperimenten erfolgte die Behandlung nach der von Hadorn (1946) eingeführten Technik *in vitro*, an freisezierten Ovarien, mit nachfolgender Implantation in unbehandelte Larven des gleichen Stadiums. Wirt und Spenderlarven stammten aus Massenzuchten. Da nach Bodenstein (1947) die Ernährungsverhältnisse während der Larvenzeit auf die Ovarentwicklung von Einfluss sind, wurde auf gute, gleichmässige Futterbedingungen geachtet. Zweistunden-Gelege von 40–50 Weibchen in flachen Schalen mit 100 ccm Futter (s. S. 95), auf dem während mehreren Tagen im Kühlschrank bei 4–6° C Frischhefe zu einer dicken Schicht wachsen konnte, lieferten durchwegs grosse Larven mit gutentwickeltem Fettkörper. Um sicher zu gehen, entnahmen wir den Schalen nur solange Tiere, als noch Frischhefe auf dem Futter lag.

Als Spenderlarven fanden diejenigen Tiere Verwendung, die an den Schalenwänden emporkrochen. Als Wirte wurden Larven beiderlei Geschlechts benützt, die 96 h nach der Eiablage das Futter noch nicht verlassen hatten. Diese um etwa 20 h jüngern Larven ertragen die Implantation besser als die verpuppungsreifen Tiere. Sie können mit etwas Aether aus dem Futter ausgetrieben werden. Der Altersunterschied von etwa 20 h zwischen Wirt und Implantat ist nach den Untersuchungen von M. Vogt (1942 a) für die Weiterentwicklung bedeutungslos, wenn, wie das hier der Fall ist, der Spender der ältere ist. In jeden Wirt wurde nur ein Ovar implantiert. Die Sektion der Wirtstiere erfolgte 2–5 Tage nach dem Schlüpfen aus der Puppe, d.h. zu einer Zeit, da normale Gonaden bereits reife Eier enthalten. Die Eiablage beginnt bei „Berlin-Inzucht“ 2 Tage nach dem Schlüpfen der Imago.

Zur Erleichterung der mechanischen Behandlung wurden die mit einem kleinen Stück des umgebenden Fettkörpers isolierten Ovarien in einem Tropfen Holtfreter gewöhnlicher Konzentration zum Quellen gebracht. Eine kurze Quellung in diesem Umfange beeinträchtigt, wie zahlreiche Transplantationsexperimente zeigten, die Normalentwicklung des Ovars nicht. Daraufhin erfolgte die Zerstörung wie folgt: 1. Das Ovar wurde mit einer Präpariernadel am Fettkörper festgehalten und bei 30-facher Vergrösserung unter der Binocularlupe mit einer zweiten Präpariernadel angestochen und gequetscht, bis die Turgeszenz des Ovars verschwunden war. Die ausgeflossenen Ovarien wurden daraufhin implantiert. 2. Weniger Zeit erforderte eine zweite Methode, bei der das isolierte Ovar unmittelbar vor der Implantation in eine sehr enge Implantationsnadel (70 μ) kräftig eingesogen und wieder ausgestossen wurde. Das Ovar wurde dabei auseinandergerissen und der Inhalt zum grossen Teil herausgedrückt. Anschliessend konnte es sofort mit der selben Nadel implantiert werden. Auf beide Arten gelang es, den gewünschten Effekt zu erreichen. Es wirkte sich aber in beiden Fällen auf die Reorganisation des Organes nachteilig aus, dass die Ovarhülle dabei stark zerriss. Um diese möglichst zu schonen, wurden in einer dritten

Versuchsserie die Ovarien punktiert. Die wiederum mit einer Präpariernadel am Fettkörper festgehaltenen Ovarien wurden mit einer Transplantationsnadel ohne Einschnürung von 20—30 μ Dicke angestochen. Am Halter der Nadel war ein Gummischlauch befestigt, durch den die Ovarien mit dem Mund ausgesogen werden konnten. Diese Anordnung lieferte die schönsten Resultate. — In allen drei Fällen wurde darauf geachtet, dass die Ovarien im verletzten Zustand nicht länger als 10 Minuten im Holtfreter verblieben und dass von der Sektion bis zur Implantation nicht mehr als 1 h verstrich.

Bei der Bestrahlung mit ultravioletem Licht lagen die isolierten Ovarien auf einem hohlgeschliffenen Objektträger in einem grossen flachen Tropfen doppelt konzentrierter (ca isotonischer) Holtfreterslösung. Um die Versuchsanordnung von der Absorption der Strahlung durch die Alkalimetallionen der Lösung möglichst unabhängig zu machen, wurden die Ovarien an die Oberfläche des Tropfens gebracht, wo sie dank der Oberflächenspannung haften blieben. Als Lichtquelle diente eine Höhensonne Marke Hanau mit Emmissionsmaximum bei 360 m μ . Wirksam waren Expositionen von 2½ und 3' Dauer im Abstand von 32 cm nach halbstündigem Vorheizen der Lampe. Implantiert wurde unmittelbar anschliessend bis höchstens 10' nach der Bestrahlung. Auch hier wurde darauf geachtet, dass der ganze Vorgang nicht mehr als 1 h beanspruchte.

Die Röntgenbestrahlung erfolgte im Gegensatz zu den anderen Behandlungen *in situ*. Die genaue Beschreibung der Versuchsanordnung wird im nächsten Kapitel im Zusammenhang mit den weiteren Röntgen-

TABELLE 2.

Experiment	Anzahl 4—5 Tg alter Wirtsimagines (mit je 1 Implantat)	Anzahl der gefundenen Implantate	Anzahl der reduzierten Implantate
mechanisch . . .	128	33	23
UV	31	15	13
Röntgen	Anzahl der 2 Tg alten Imagines	Anzahl der gefundenen Ovarien	Anzahl der reduzierten Ovarien
	25	41	27
Total	184	89	63

Übersicht über die Erfolgsquoten bei den verschiedenen Larven-Experimenten.

(Für die Röntgenexperimente vergl. auch Tab. 3, S. 149.)

experimenten gegeben. Hier soll nur erwähnt sein, dass die narkotisierten Larven mit 4500 r im hintern Körperdrittel bestrahlt wurden.

Sowohl bei UV- wie bei Röntgenbestrahlung wurde die Dosis nach oben durch die Empfindlichkeit des somatischen Gewebes, das nicht geschädigt werden durfte, begrenzt. Die Röntgendosis hatte sich ausserdem nach der Sensibilität der Larvenepidermis zu richten. Epidermisschäden brachten den grössten Ausfall an Imagines.

Eine Übersicht über die Ausbeute der verschiedenen Experimente gibt Tab. 2. Von den mechanisch zerstörten Implantaten wurden nur rund $\frac{1}{4}$ wiedergefunden, was nur zu einem geringen Teil auf Operations-

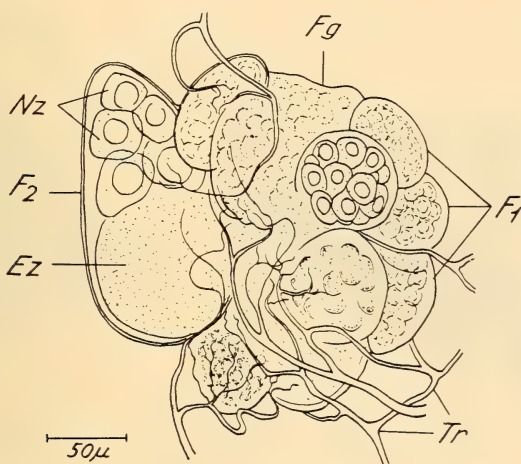


ABB. 6.

Stark geschädigtes Ovarimplantat (ausgesogen) aus einer 4—5 Tage alten Wirtsimago. F_1 Follikel mit jungen Keimzellen; F_2 reifender Follikel mit Nährzellen (Nz) und Dotterablagerung in der Eizelle (Ez); Fg Fettgewebe; Tr Tracheen.

fehlern beruhen kann. Es muss angenommen werden, dass sich viele der zerstörten Ovarien nicht mehr reorganisieren konnten und so im Wirt aufgelöst wurden. Etwas günstigere Verhältnisse zeigen die UV-Experimente, wo 50% der Implantate sich entwickelten. Selbst bei den *in situ* mit Röntgen bestrahlten Ovarien gab es Ausfälle. Drei der bestrahlten Weibchen wurden ohne Ovarien gefunden und bei drei weiteren war nur je ein Ovar entwickelt.

b) Äussere Entwicklungsleistung.

Bei der Sektion der 2—5 Tage alten Wirtsfiegen findet man die Implantate hauptsächlich in Form eines pulsierenden Konglomerates kleinerer und grösserer Bläschen, in denen z.T. Keimzellen und Dotterablagerungen zu erkennen sind (Abb. 6). Merkwürdigerweise mischen

sich unter diese Bläschen aber auch solche, die Fettzellen enthalten (Fg). Ein reiches Tracheengeflecht (Tr) umspinnnt und durchsetzt die Implantate. Je nach Grad der Schädigung können den Bläschen auch ein bis mehrere reife Eier anliegen.

Es gibt jedoch auch Ovarien, die sich besser reorganisieren konnten und eine äusserlich geschlossene Organform heranbildeten. Einige davon unterscheiden sich äusserlich von gleichalterigen, normalen Ovarien nur durch die geringere Anzahl der Ovariolen mit reifen Eiern und durch das gehäufte Vorkommen von invers und quer gelagerten Eiern, sowie durch teilweise abnorme Eiformen (Abb. 7). Soweit diese Implantate nicht bis

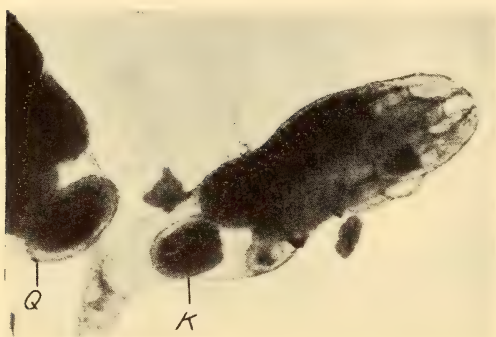


Abb. 7.

Schwach geschädigtes Ovar (Röntgen). K Kugelei;
Q Ei in Querlage. Mikrophoto. Vergr. ca 50 ×.

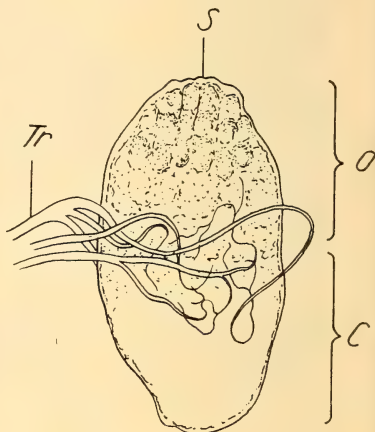


Abb. 8.

Stark geschädigtes Ovar ohne
Dotterbildung. C Calyx; O Ovar;
S Ovarspitze; Tr Tracheengürtel.
Vergr. s. Abb. 6.

zur Eibildung kamen, sind ovoide oder kugelige Gebilde entstanden, die im besten Fall den Ovarien frisch geschlüpfter Weibchen gleichen (Abb. 8). Sie lassen jedoch unter der Binokularlupe nicht deren regelmässig nebeneinandergereihten, perlschnurartigen Ovariolen erkennen, sondern zeigen eine ungeordnete, schaumig blasige Beschaffenheit des Innern. Nur an der Spitze ist manchmal eine gewisse Längsgliederung zu sehen (Abb. 8, S). Tracheen sind hier ebenfalls reichlich vorhanden und bilden mehr oder weniger deutlich den für normale junge Ovarien charakteristischen Gürtel um die Gonade. Dieser entsteht dadurch, dass die meisten Tracheen an der Grenzlinie zwischen Calyx und Ovarstroma ins Gewebe eintreten (Abb. 8, Tr). Entsprechende Entwicklungsleistungen von Ovarien hatte HADORN (1946) nach Behandlung mit Colchicin erhalten.

Die Implantate sind durchwegs viel kleiner als normale Ovarien des gleichen Alters. Das erklärt sich leicht aus der geringern Anzahl der gebildeten Eier und (bei den mechanisch zerstörten Ovarien) durch den Substanzverlust bei der Behandlung. Mindestens bei den mit Röntgen bestrahlten Ovarien muss daneben aber noch eine allgemeinere Wachstumsstörung mitspielen. Dies kann aus der Gegenüberstellung normaler und bestrahlter Ovarien in Abb. 9 ersehen werden. Die obere Reihe der Abbildung enthält die Umrissse von vier spätlarval mit Röntgen bestrahlten Ovarien, in denen Dotterablagerungen unterblieben sind. Die



ABB. 9.

Grössenverhältnisse von normalen und bestrahlten Ovarien. Obere Reihe: Röntgenovarien ohne Dotterbildung. Untere Reihe: normale Ovarien frisch geschlüpfter Weibchen vor der Dotterbildung.

untere Reihe zeigt Umrissse von Normalovarien frisch geschlüpfter Weibchen, deren Gonaden auf diesem Stadium ebenfalls noch dotterfrei sind. Zwischen den Ovarien der beiden Reihen besteht ein ganz beträchtlicher Grössenunterschied, der weder auf Gewebsverlust noch auf mangelnde Dotterproduktion zurückgeführt werden kann. Es muss vielmehr eine umfassendere Wachstumshemmung der behandelten Ovarien angenommen werden.

Interessant sind drei Fälle, bei denen sich vom Implantat nur je eine einzige isolierte Ovariole entwickelt hat. Die eine davon (Abb. 10) enthält drei dem Anschein nach normal proportionierte reife Eier (E). Weitere sind in Bildung begriffen (r.F). Die Isolierung scheint völlig ohne Einfluss auf die Entwicklung der Ovariolen geblieben zu sein. Dieser Befund verrät eine weitgehende Unabhängigkeit der Ovariolendifferenzierung vom Ovarganzen.

In den weiblichen Wirten fanden viele Implantate die Verbindung mit den Ovidukten. Andere wurden durch ihre Tracheen am Wirtsovar oder an einer beliebigen Stelle des Geschlechtstraktes oder des Darmes festgeheftet. In einem Tier wurde ein Ovar mit zwei Spitzen gefunden, das wahrscheinlich durch Verschmelzen des Implantates mit einem der Wirtsovarien entstanden ist. Seltener waren die Ovarien einfach mit der Körperwand verbunden. Kein einziges Ovar wurde in der vorderen Hälfte des Abdomens oder gar im Thorax angetroffen.

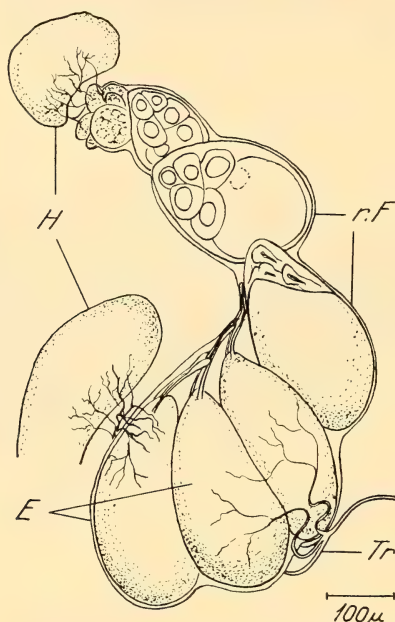


ABB. 10.

Isoliert aufgewachsene Ovariole eines mechanisch zerstörten Ovars aus einem männlichen Wirt. E Eier; r.F reife Follikel; H Hoden; Tr Tracheen.

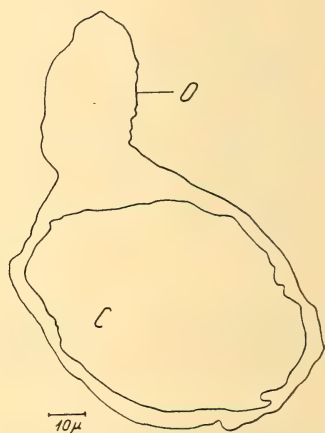


ABB. 11.

Agametisches Ovar.
Übersichtszeichnung.
C Calyx; O Ovarkörper.
Längsschnitt.

In den männlichen Wirten lagen ähnliche Verhältnisse vor. Die meisten Implantate standen in mehr oder weniger engem Kontakt mit den Hoden. Dies blieb in vielen Fällen nicht ohne Einfluss auf die Ausbildung der männlichen Gonade. Zwei Implantate waren z.B. mit ihren Tracheen an Hoden angeheftet, die nicht spiralisiert waren, obwohl sie mit den *Vasa deferentia* verwachsen waren. Der eine Hoden, der selbst atrophisch ist, trug ein sehr grosses Ovar, so dass man an eine rein mechanische Behinderung der Spiralisierung denken könnte, nur ist diese normalerweise schon beendet, bevor die starke Grössenzunahme des Ovars einsetzt (STERN 1941). Der andere Hoden, dick keulig aufge-

trieben, trug nur ein sehr kleines, stark reduziertes Ovar. Ein weiteres Implantat sass unmittelbar am Übergang vom Vas deferens zum angehefteten Hoden, der zwar spiralisiert, aber ebenfalls zur dicken Keule aufgetrieben war. In einem andern Fall verblieb das ziemlich stark reduzierte Ovar frei in der Körperhöhle. Es verbanden sich aber trotzdem nicht beide Hoden mit den Vasa, sondern der eine, sehr klein gebliebene, war mit der Basis des Implantates verbunden. Abb. 10 stellt einen ähnlichen Fall dar, nur dass hier die Verbindung locker blieb, während es sich dort um ein eigentliches Verwachsen handelt. Es scheinen auch zwischen Hoden und Ovar Affinitäten zu bestehen, die unter Umständen sogar stärker als die Affinität Hoden-Vas deferens sein können. Erwähnenswert ist noch der Fall, bei dem statt des Hodens das Ovar mit dem Vas verwachsen ist und der verdrängte Hoden dem Ovar lose aufsitzt.

Sowohl in männlichen wie in weiblichen Wirten trugen viele der Implantate auf ihrer Oberfläche kräftige gelbe Flecken. Es handelt sich dabei um Hodenpigment, wie es HADORN (1946) bei Colchicin-geschädigten Ovarien, NIGGLI (1947) nach Behandlung mit Kaliumpermanganat und HADORN und BERTANI (1948) durch Induktion bei unverletzten Ovarimplantaten gefunden haben. In den Röntgenexperimenten waren auf etwa $\frac{1}{3}$, in den UV-Experimenten auf etwa $\frac{1}{5}$ der Ovarien solche Hodenpigmentflecken vorhanden. Bei den mechanisch zerstörten Ovarien traten sie spärlicher auf. Anderer Art ist dagegen die diffuse hellgelbe Färbung, wie sie der Inhalt einzelner der Keim- oder Fettzellen enthaltenden Bläschen aufwies. Auch von den reifen Eiern waren einzelne gelblich. Die diffuse hellgelbe Färbung ist wohl ein Anzeichen für Zersetzungsercheinungen. Auch in Normalovarien werden gelbe Eier angetroffen, wenn aus irgend einem Grund die Eiablage behindert war.

c) *Histologie.*

α) *Total agametische Ovarien.*

Im Ganzen konnte mit den drei verschiedenen Behandlungsarten bei 63 Ovarien eine Reduktion erzielt werden (s. Tab. 2). Unter ihnen ist aber nur bei dreien der mechanisch zerstörten Ovarien die vollständige Entfernung der Keimzellen erreicht worden. Alle andern behandelten Ovarien enthalten noch eine wechselnde Zahl mehr oder weniger weit entwickelter Keimzellen. Mit UV- und Röntgenbestrahlung ist zwar an und für sich die vollständige Vernichtung der Keimzellen leicht zu erreichen; nur sind die dazu nötigen Dosen so stark, dass auch das somatische Gewebe erheblich leidet. Dieses musste für unsere Zwecke jedoch intakt bleiben. Zweifellos wären bei einem grösseren Material auch mit den ver-

wendeten schwachen Dosen eine gewisse Zahl agametischer Ovarien entstanden, so dass einheitliche Serien aus allen drei Experimenten

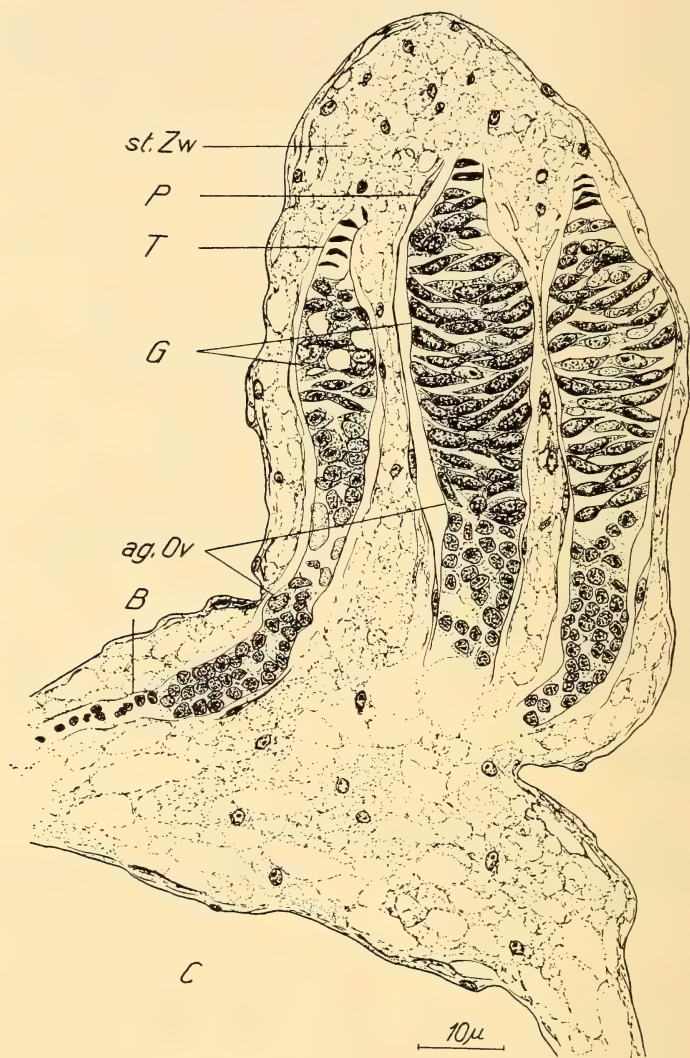


ABB. 12.

Drei agametische Ovariolen aus dem Ovar der Abb. 11. ag.Ov agametische Ovariolen; B Basisstiel; C Calyx; G Germarium; P Peritonealhülle; st.Zw steriles Zwischengewebe; T Terminalfilament. Die agametische Ovariolen links liegt mit der ganzen Länge im Schnitt, bei den 2 Ovariolen rechts folgen das basale und apicale Ende im Nachbarschnitt. Längsschnitt.

hätten verglichen werden können. Da daraus jedoch, wie später gezeigt wird (s. S. 132), keine neuen Gesichtspunkte zu erwarten waren, wurde das Versuchsmaterial nicht weiter vermehrt.

Die drei keimzelllosen Ovarien zeigen alle den gleichen Bau. Auf einen kompakten Teil, der von lockerem, faserigem Gewebe — dem Ovarstroma — gebildet wird, folgt ein verschieden deutlich ausgebildeter Hohlraum, der Calyx. Besonders schön ist dies in Abb. 11 zu sehen, wo an den eigentlichen Ovarkörper (O) eine um ein mehrfaches grössere Calyxblase (C) anschliesst. Wegen der abnormen Kleinheit des Gonadenkörpers erscheint hier der Calyx überdimensioniert; in Wirklichkeit hat er annähernd normale Ausmasse. Im Stroma eingebettet liegen ziemlich kompakte, im Querschnitt runde Stränge von Zellen, deren Kerne sich mit Hämalan viel stärker färben als die des umgebenden Gewebes (Abb. 12, ag.Ov). Jeder Strang ist von einer kernhaltigen Membran (P) umgeben. Diese Zellstränge haben nicht in allen drei Ovarien genau das gleiche Aussehen. In zwei Ovarien, darunter dem Ovar von Abb. 12, werden sie von einer grossen Zahl kleiner Zellen gebildet; besonders klein sind sie im basalen, gegen den Calyx gerichteten Abschnitt, wo die Zellen sehr eng gedrängt liegen. Die Kerne haben hier eine eckig-kugelige Form und färben sich sehr stark mit Hämalan. Im anschliessenden, bauchig erweiterten Teil sind die Zellen und ihre Kerne etwas grösser und mehr spindelförmig. Die Kernfärbung ist hier blasser. Die Zellen erscheinen nur noch in der Aufsicht eng aneinanderliegend, gegen das Stranginnere weichen sie auseinander. Ein richtiges, durchgehendes Lumen ist jedoch nicht vorhanden, sodass keine eigentliche Schlauchbildung vorliegt. Die Stränge endigen beidseits in einem einreihigen Zellfaden. Der basale (B) von ihnen ist sehr dünn. Er wird von wenigen, sehr kleinen und dunkel gefärbten Zellen gebildet, die den Zellen der untern Stranghälfte gleichen, nur sind sie noch bedeutend kleiner als diese. Den breiteren, apicalen Zellfaden (T) bilden flache, scheibenförmige Zellen, deren Kerne pyknotisch erscheinen. Die geschrumpften Kerne liegen hier als parallele dunkle Bänder je in der Mitte der sonst hyalinen Zellen.

Im dritten agametischen Ovar sehen die Zellstränge etwas anders aus (Abb. 13). Sie werden von weniger, aber besonders in der oberen Hälfte viel grösseren Zellen gebildet, die lückenlos aneinanderliegen. Ihre elliptischen, blassen Kerne enthalten einige

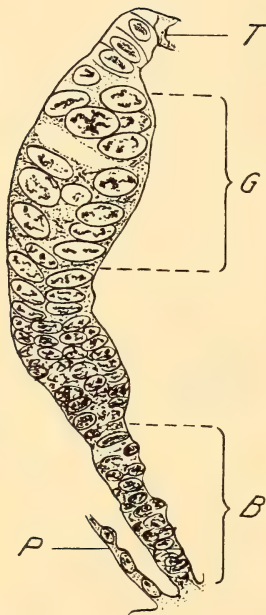


ABB. 13.

Jüngere agametische Ovariole.
B Basalstiel; G Germarium; P Peritonealhülle; T Terminalfilament.
Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 12.

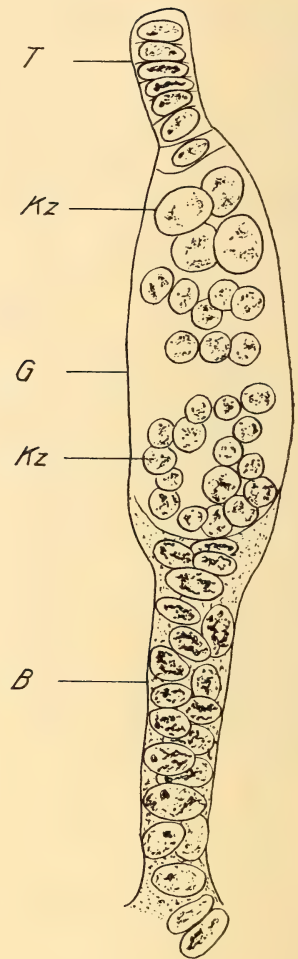


ABB. 14.

Normale Ovariole aus einem Puppen-Ovar im Alter von 2 Tagen nach der Pupariumbildung. Bezeichnung wie in Abb. 13. Kz Keimzellen.
Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 12.

Chromatinbrocken und sind so gross, dass sie beinahe den ganzen Zellraum ausfüllen und sich gegenseitig zu berühren scheinen. Gegen basal hin werden die Zellen sukzessive kleiner. Im untersten Drittel des Stranges (B) sind Zell- und Kernstrukturen unklar;

wahrscheinlich sind die Zellen hier in Auflösung begriffen. Ein einreihiges Filament ist nur apical ausgebildet (T). Es ist wesentlich breiter als in den zwei anderen Ovarien, sonst aber entsprechend gebaut. Die Kerne zeigen auch hier pyknotische Veränderungen, die aber weniger weit fortgeschritten sind. Die Kerne sind flach elliptisch und bis auf ein undeutliches Chromatinband optisch leer.

Die Ähnlichkeit der beschriebenen Zellstränge mit den jungen, noch ungeteilten Ovariolen von Puppenovarien ist unverkennbar. Im Besondern kann über die Natur der apicalen Zellreihe kein Zweifel bestehen. Ihrem Aussehen nach können es nur Endfilamente von Ovariolen sein. Auch die übrigen Abschnitte der Stränge können leicht mit Abschnitten normaler Ovariolen homologisiert werden. In Abb. 12 zeigen die Andeutung einer Epithel- und Lumenbildung durch die besondere Stellung der Zellen im oberen Teil der Stränge, sowie die spindelförmige Zellgestalt (vergleiche die Zellen dieses Teiles mit den Epithelialzellen des oberen Germariums in Abb. 15) die Übereinstimmung des bauchigen Strangstückes mit dem Germarium normaler Ovariolen. Auch der Zellstrang von Abb. 13 ist in der oberen Hälfte (G) keulig erweitert. Die apicalen Zellen entsprechen hier in Ausbildung und Grösse genau den Epithelialzellen von normalen Ovariolen eines bestimmten Stadiums, wie ein Vergleich mit Abb. 14 zeigt. In beiden Fällen stellen also die Zellstränge eine Form von „tauben“ Ovariolen dar. Ihre unterschiedliche Ausbildung ist nur durch ihren ungleichen Entwicklungsgrad bedingt: Endfilamente von derselbe Breite und mit leicht pyknotischen Zellkernen wie jene von Abb. 13 finden wir im Normalfall bei Ovariolen im Alter von etwas mehr als 2 Tg.n.P. Sie entsprechen einem um ein Geringes älteren Entwicklungsstand, als in Abb. 14 dargestellt ist, wo erst vereinzelte Zellen des Terminalfilamentes Anzeichen beginnender Pyknose erkennen lassen. Dagegen sind die ganz schmalen Filamente mit vollständig geschrumpften Zellkernen, wie sie Abb. 12 zeigt, erst an Ovariolen schlüpfreifer Imagines zu finden. Mit den zwei verschiedenen Ausbildungsgraden der Endfilamente bei den tauben Ovariolen von Abb. 12 und 13 stimmt auch die Ausbildung der zugehörigen Basen überein. Zwischen 2 und $2\frac{1}{2}$ Tg.n.P. beginnt im Normalovar die Reduktion des bis dahin grossen, säulenartigen Basisstieles, wie er noch in Abb. 14 zu sehen ist. Schon $2\frac{1}{2}$ Tg.n.P. ist er zu einem einreihigen Zellstiel geworden (Abb. 2 f). 3 Tg.n.P.

sind vom Basisstiel nur noch wenige kleine, sich dicht färbende Zellen übrig geblieben. Diese Entwicklung spiegelt sich an den tauben Ovariolen wider. Die Stränge mit den breiten Filamenten etwas mehr als 2 Tg alter Puppen (Abb. 13) enden basal in einem verjüngten Abschnitt sich auflösender Zellen (B). Dieser Strang abschnitt, der in der Art der Basisstiele mit dem Grundgewebe des Ovars in Verbindung steht, kann nur der Basisstiel der tauben Ovariole sein, der sich hier in Reduktion befindet. Ebenso entspricht der wenigzellige basale Faden in Abb. 12 ganz dem Aussehen der Basisstiele in einem drei- oder mehrtägigen Puppenovar. Es kann also auf Grund der Ausbildung von Endfilament und Basisstiel der Entwicklungsgrad der drei keimzellosen Ovarien bestimmt werden. Die vier Tage nach dem Schlüpfen der Imagines fixierten agametischen Ovarien haben die Stufe von 2-tägigen Puppenovarien bzw. von Ovarien schlüpfender Imagines erreicht. Mit diesem Befund stimmen auch der Zustand der Peritonealhüllen um die Ovariolen und die Calyxgrößen überein.

Normale Ovarien schlüpfender Weibchen unterscheiden sich jedoch in einem wesentlichen Punkt von den zwei älteren agametischen Ovarien: sie enthalten im Gegensatz zu diesen Follikel. Zwischen 2 und $2\frac{1}{2}$ Tg.n.P. beginnt die Abschnürung des ersten Follikels von der bis dahin ungeteilten Ovariole (Abb. 2); 3 Tg.n.P. sind bereits die zwei untersten Follikel fertig abgeschnürt. Parallel mit der Follikelbildung geht die Vermehrung der Epithelialzellen in diesem Bereich vor sich. Zur Zeit, da das kubische Follikelepithel gebildet wird, sind nämlich Mitosen der somatischen Ovarzellen häufig, während vor und nachher solche Mitosen nur spärlich angetroffen werden. Von diesen beiden Vorgängen hat in den agametischen Ovarien offenbar nur der eine, die Zellvermehrung, stattgefunden; die Follikelbildung selber aber ist unterblieben. Schon bei den jüngeren der agametischen Ovariolen deutet die unterhalb des keulig erweiterten Abschnittes (Abb. 13, G) rasch abnehmende Grösse der Epithelialzellen auf eine Vermehrung der Zellen hin. Sicher aber haben die älteren agametischen Ovariolen (Abb. 12) eine Vermehrungsphase der Epithelialzellen hinter sich, anders ist die viel grössere Anzahl und

die Kleinheit der Zellen gegenüber jenen der jüngeren Ovariolen nicht zu erklären. Höchst wahrscheinlich entspricht also der untere Abschnitt der Zellstränge mit den enggepackten, kleinen polyedrischen Zellen demjenigen Ovariolenabschnitt, der eigentlich in Follikel unterteilt sein sollte, während nur der obere, in Übereinstimmung mit Form und Stellung der Zellen, das Germarium vertritt. Ebenso ist bei der Ovariole von Abb. 13 nur der grosszellige, breitere Abschnitt (G) dem Germarium gleichzusetzen, während die anschliessende Übergangszone zum Basisstiel (B) mit den kleineren, aber zahlreichen Zellen den Ansatz zur Bildung der ersten Basalfollikel zeigen sollte (s. Abb. 2 e).

Die genaue Analyse der agametischen Ovariolen zeigte, dass diese nur beschränkt mit den noch ungeteilten, normalen Puppenovariolen übereinstimmen, indem ihre Zellen sich in imaginaler Richtung doch erheblich weiter entwickeln. Für die Zellen des Basisstieles und des Terminalfilamentes kann sogar angenommen werden, dass die imaginale Differenzierung vollendet wird. Damit würden einzig bei den Epithelialzellen i.e.S. Schritte in der imaginalen Entwicklung ausfallen, nämlich die Abtrennung der Follikel und die nachfolgende Ausbildung des kubischen Follikelepithels mit seinen verschiedenen Funktionsstufen.

Im Gegensatz zu dieser nur bedingten Übereinstimmung steht die vollständige Identität unserer agametischen Ovariolen mit den von GEIGY (1931) beschriebenen „cordons cellulaires“ primär agametischer Ovarien. GEIGY hatte durch Bestrahlen der Eier von *Dros. mel.* mit UV die Urkeimzellen v o r ihrer Einwanderung in die somatische Gonadenanlage abgetötet. Diese Gonadenanlagen, die nie mit Keimzellen in Berührung gekommen waren, entwickelten sich zu sexuell differenzierten Gonaden. In den weiblichen — primär — agametischen Gonaden fand GEIGY Strukturen („cordons cellulaires“), deren Beschreibung und deren Abbildungen in allen Teilen mit denen unserer agametischen Ovariolen übereinstimmen und die auch von GEIGY als „équivalent des tubes ovari-ques des ovaires de la période nymphale“ angesehen werden. GEIGY diskutiert den Entwicklungsstand der „cordons cellulaires“ nicht näher. Er erwähnt nur, dass sie sich durch ihre grössere Länge und durch die entsprechend höhere Zellzahl von den nymphalen Ovariolensträngen unterscheiden. Nach der Abbildung zu schliessen (GEIGY 1931, Pl. 13 C) haben die „cordons cellulaires“ jedoch genau

wie die agametischen Ovariolen des ausgesogenen Ovars in Abb. 12 eine weit über das Stadium der ungeteilten Ovariolen hinausgehende imaginale Differenzierung durchgemacht. Die Terminalfilamente sind schmal, an den verbreiterten Teil (renflement) schliesst ein langer Abschnitt sehr kleiner Epithelialzellen an. Basisstiele sind keine abgebildet; sie sind offenbar schon vollständig reduziert. Das im Alter von 3 Tg nach dem Schlüpfen der Imago fixierte Ovar aus dem Experiment GEIGY's hat danach die gleiche Entwicklungshöhe wie das nur wenig später fixierte Ovar von Abb. 12 erreicht. — ABOIM (1945), der das Experiment von GEIGY wiederholt und die Identität der GEIGY'schen „cordons cellulaires“ mit den Ovariolen sichergestellt hat, fixierte spätestens nach 3 und 4 Tg Puppenruhe (Dauer der Puppenzeit $4\frac{1}{2}$ Tg). Er erhielt dementsprechend weniger weit entwickelte Ovariolen, wie aus Fig. 35 und 36 seiner Darstellung hervorgeht. Nach Angabe des Autors sollen zwar die agametischen Ovarien 4 Tg alter Puppen und 2—3 Tg alter Imagines vollständig übereinstimmen. Fig. 36 (4 Tg alte Puppe) zeigt aber deutlich die geringere Entwicklungshöhe dieser agametischen Ovariole gegenüber denen von GEIGY. Der in ABOIM, Fig. 35 abgebildete Strang aus einer 3 Tg alten Puppe stimmt sehr gut mit dem Strang des zerdrückten Ovars in Abb. 13 überein.

Der Vergleich aller hier erwähnten Abbildungen zeigt deutlich, dass sich in den spätlarval sterilisierten Ovarien die gleichen Entwicklungsvorgänge abgespielt haben wie in den von allem Anfang an agametischen Ovarien. Jedenfalls kann in den erst larval agametisch gewordenen Ovarien keinerlei weitergehende Differenzierung der Ovariolenstränge festgestellt werden. Auf die Folgerungen, die aus diesem Parallelbefund gezogen werden müssen, soll nachfolgend in der Diskussion näher eingegangen werden (S. 144).

β) *Partiell agametische Ovarien.*

Die Ausbildung der 60 Ovarien, die noch Keimzellen in mehr oder weniger reduzierter Zahl enthalten, ist sehr vielfältig und hängt weitgehend von der Anzahl und dem Entwicklungsgrad der übriggebliebenen Keimzellen ab. Je mehr Keimzellen vorhanden und

je weiter diese entwickelt sind, umso mehr nähert sich die Struktur derjenigen eines Normalovars. Einige der behandelten Ovarien unterscheiden sich von normalen Ovarien nur durch die geringere Anzahl der Ovariolen. Sie enthalten normal proportionierte, reife Eier und heranwachsende Follikel, an denen keinerlei Besonderheiten auffallen. Das interstitielle Gewebe und das Basisgewebe sind vollständig verschwunden, wie es dem Sektionsalter des Implantates entspricht. Die Behandlung führte hier nur zu einer Verringerung der Elemente. Dieses Resultat kann sowohl durch Verlust eines ganzen Ovarsektors bei der Zerstörung wie auch durch Resorption geschädigter Teile während der nachfolgenden Entwicklung zustandegekommen sein.

In der Mehrzahl der Fälle aber zeigen die behandelten Ovarien deutliche Spuren der Schädigung (Abb. 15). Die regelmässige Anordnung und die synchrone Entwicklung der Ovariolen sind gestört. Neben Ovariolen mit reifen Eiern in den basalen Follikeln können in der Entwicklung zurückgebliebene Ovariolen liegen, die nur kleine, dotterlose Follikel enthalten. Als Folge solch starker Entwicklungsunterschiede sind Formverzerrungen und Verlagerungen in den behandelten Ovarien entstanden. Die normalerweise nahezu gerade und parallel verlaufenden Ovariolen sind gewunden und verschieden orientiert (Abb. 15, links). In der Entwicklung zurückgebliebene Follikel, die reifenden Eiern in Nachbarovariolen anliegen, sind stark in die Länge überdehnt. Eier liegen häufig quer oder invers. — Die Rückbildung des interstitiellen Gewebes und des Basisgewebes kann in ein und demselben Ovar sehr verschieden weit fortgeschritten sein. Ovarpartien von mehr oder weniger normaler Struktur, d.i. mit weit entwickelten Ovariolen und ohne Zwischengewebe (Abb. 15, rechte Bildhälfte) wechseln ab mit mehr oder weniger agametischen Arealen, die in der Hauptsache von interstitiellem und basalem Gewebe gebildet werden (Abb. 15, linke Bildhälfte). Da das somatische Grundgewebe ausschliesslich dort erhalten geblieben ist, wo die Ovariolen nur einen niederen Entwicklungsstand erreicht haben, muss angenommen werden, dass die Rückbildung des Grundgewebes in direktem Zusammenhang mit der Ovariolenentwicklung erfolgt. — In extremen Fällen wird durch die ungleiche Auswirkung der Behandlung die dem Ovar eigene Struktur vollständig verwischt.

Die Keimzellen, welche die Behandlung überstanden haben, sind, wie das schon aus dem Bisherigen hervorgeht, in der Entwicklung sehr verschieden weit gekommen. In den basalen Follikeln,

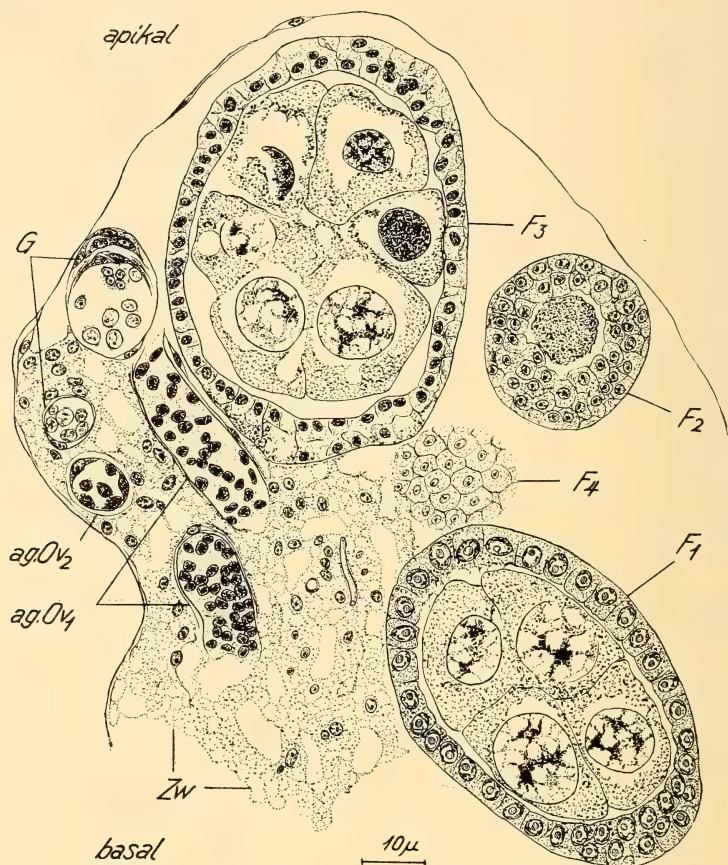


Abb. 15.

Partiell agametisches Ovar. Rechts \pm normal entwickelte Ovarpartie mit älteren Follikeln, ohne Zwischengewebe. Links Ovarpartie mit Ovariolen, die in der Entwicklung zurückgeblieben sind, agametischen Ovariolen und erhaltenem Zwischengewebe. ag.Ov₁ Längsanschnitt von agametischen Ovariolen; ag.Ov₂ Querschnitt einer agametischen Ovariole; F₁ normaler Follikel, Beginn der Dottersynthese; F₂ Anschnitt eines Follikels; F₃ Follikel mit 2 normal aussehenden Nährzellen (basal) neben solchen mit pyknotischen Kernen (apikal); F₄ Calotte eines angeschnittenen Follikels; G normale Germarien mit Oogonien, quer; Zw Zwischengewebe. Längsschnitt, etwas schief zur Längsachse des Ovars getroffen.

die — dem Alter der behandelten Ovarien bei der Sektion entsprechend — reife Eier enthalten sollten, kommen Keimzellen aller Stadien einschliesslich frisch entstandener Oocyten I (Grössenklasse I, S. 106) vor.

Die vorhandenen *Follikel* scheinen im allgemeinen typisch ausgebildet zu sein. Doch finden wir auch viele Follikel mit pyknotischen Kernveränderungen in den Keimzellen und — seltener — in den Follikelepithelzellen (Abb. 15, F₃). Starke pyknotische Kernveränderungen sind bei den Keimzellen z.T. von einem scholligen Zerfall der Zellen begleitet. Im Follikelepithel haben Zellen mit pyknotisch verdichtetem Kern meist vakuolisiertes Plasma (Abb. 15, F₃). Von den 16 Keimzellen eines Follikels können alle etwa gleichstark von der Degeneration betroffen sein; häufiger aber enthalten die Follikel Keimzellen mit verschieden weit veränderten Kernen, worunter sich meistens auch solche von normalem Aussehen befinden. So enthält z.B. F₃ in Abb. 15 neben 11 Nährzellen mit \pm abgekugelten, verdichteten Kernen zwei Nährzellen mit stark pyknotisch verändertem Kern, zwei Nährzellen mit normal aussehenden Kernen und eine ebensolche Eizelle. Im abgebildeten Schnitte von F₃ sind unten die zwei Zellen mit den normalen Kernen und darüber drei mit schon stark verdichteten Kernen zu sehen. Die pyknotischen Veränderungen der Keimzellkerne sind bei allen Altersstufen der Follikel und in verschieden starker Ausprägung zu finden. Es gibt sehr junge Follikel mit stark verdichteten abgekugelten Keimzellkernen, anderseits auch wohl ausgebildete, dotterhaltige Follikel, bei denen erst schwache Anzeichen von Kernveränderungen in den grossen Nährzellen zu sehen sind. In diesem Fall darf wohl angenommen werden, dass die Degeneration erst bei fortgeschrittenem Entwicklungsstand der Oocyten I begonnen hat. Die histologisch sichtbare Reaktion auf die experimentelle Einwirkung kann also unter Umständen erst sehr spät, gegen Ende der Keimzellentwicklung erfolgen.

Die unterschiedliche Reaktion der einzelnen Keimzellen eines Follikels, sowie überhaupt das Vorkommen von Oocyten I mit sichtbaren und z.T. eindeutig letalen Nachwirkungen der Behandlung muss auffallen, wenn man bedenkt, dass der Schaden ja zu einer Zeit gesetzt wurde, da von der ganzen Keimzellgruppe erst die Mutterzelle vorhanden war. Der Insult wird in diesen Fällen also erst in der vierten nach-

folgenden Zellgeneration und nur für einen Teil der Schwesterzellen verhängnisvoll. Diese merkwürdig verzögerte und dazu nur partielle Wirkung tritt sowohl nach dem mechanischen Eingriff, wie auch nach der Bestrahlung mit UV oder Röntgen auf und wird noch näher zu diskutieren sein (s. S. 139). Ob auch schon während der Umwandlungsteilungen der Oogonien zu Oocyten I Zellen abortiv werden oder ob einzelne oocytogetische Mitosen ausfallen, ist am vorliegenden Material nicht mit genügender Sicherheit feststellbar.

Bis jetzt wurde die mannigfaltige Ausbildung jener Ovariolen und ihrer Follikel beschrieben, die nach dem experimentellen Eingriff noch Keimzellen enthalten. Es muss nun besonders hervorgehoben werden, dass in nicht weniger als in 29 von den 60 partiell agametischen Ovarien ausser den \pm geschädigten Ovariolen und Follikeln auch noch keimzellfreie, ungeteilte Ovariolen zu finden sind, die strukturell mit den agametischen Ovariolen der total keimzellfreien Ovarien völlig übereinstimmen (Abb. 15, ag.Ov). Diese agametischen Ovariolen liegen in nächster Nachbarschaft von ausgebildeten Eiern und reifenden Follikeln. Das Nebeneinander von vollentwickelten, von zurückgebliebenen und von ungeteilten agametischen Ovariolen zeigt, dass sich die Ovariolen innerhalb eines Ovars weitgehend unabhängig voneinander entwickeln. Daher war es für unsere Untersuchung auch überflüssig, von allen Versuchsserien total agametische Ovarien zu besitzen (s. S. 123). Die ungeteilten Ovariolen aus den nur partiell agametischen UV- und Röntgen-Ovarien dürfen ohne weiteres denen aus den total agametischen Ovarien gleichgestellt werden. Die Zahl der tauben Ovariolen in den 29 partiell agametischen Ovarien schwankt zwischen 1 und 10. Eine der ungeteilten Ovariolen eines UV-bestrahlten Ovars enthält in ihrem Spaltraum noch Überreste zerfallener Zellen, die der Färbbarkeit nach Keimzellen gewesen sind (Abb. 16, K).

Es wurde S. 131 erwähnt, dass die Follikel im allgemeinen typisch ausgebildet sind. Von den in einigen Fällen gefundenen Abweichungen erfordert die eine jedoch eine nähere Untersuchung. Es war bei ein paar Follikeln geschädigter Ovarien deutlich zu erkennen, dass das Follikelepithel eine grössere Dicke erreicht hatte, als dies auf Grund der Eikerngrösse zu erwarten war. Bei der Beschreibung der Normalentwicklung (s. S. 113 ff) wurde dargelegt,

dass jedem der verschiedenen Entwicklungsstadien der Follikel sowohl eine bestimmte Grössenklasse der Eikerne als auch ein bestimmter Dickenbereich des Follikelepithels entsprechen (Abb. 5, S. 114). Es kann deshalb angenommen werden, dass die beiden Grössen ein Mass der physiologischen Entwicklungshöhe darstellen. Da es sich ausserdem in beiden Fällen mit zunehmender Entwicklung um stetig wachsende Grössen handelt, muss im Normalfollikel zwischen Eikerngrösse und Epitheldicke eine numerische Korrelation bestehen. Dieser Korrelation kann eine direkte Kausalbeziehung zwischen den beiden Grössen zugrunde liegen; sie ist aber nicht notwendige Voraussetzung dazu. Eine direkt kausal bedingte num. Korrelation liegt dann vor, wenn der Entwicklungsstand des einen Follikelbestandteiles, z.B. derjenige der Eizelle, den Ausbildungsgrad des andern bestimmt. Die num. Korrelation kann aber auch einfach Ausdruck einer Parallelentwicklung sein, die von einer übergeordneten Stelle her synchronisiert wird. Als solche käme nach den Untersuchungen von M. Vogt (1942) vor allem die Ringdrüse in Betracht. Wenn Eizelle und Follikelepithel sich parallel, d.h. unabhängig voneinander entwickeln, ist es denkbar, dass die Korrelation zwischen Eikerngrösse und Epitheldicke experimentell gestört oder aufgehoben werden kann. Jedes der beiden Follikelelemente kann dann einzeln durch den experimentellen Eingriff in seiner Entwicklung gehemmt werden, ohne dass der andere dadurch in Mitleidenschaft gezogen werden muss. Dagegen muss die Korrelation in allen Fällen, auch bei Hemmung nur des einen Teiles, unverändert erhalten bleiben, wenn die Entwicklung in gegenseitiger oder auch nur einseitiger Abhängigkeit voneinander erfolgt; bei einseitiger Abhängigkeit allerdings nur,

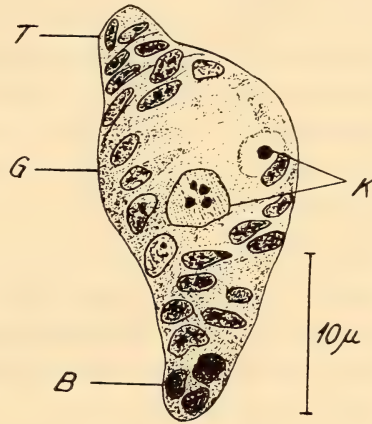


ABB. 16.

Unteilte Ovariole mit Resten von Keimzellen. B Ansatz des Basalstieles; G Germarium; K Keimzellen; T Ansatz des Terminalfilamentes. Längsschnitt.

wenn die in der Entwicklung unabhängige Grösse auch bei der Berechnung als Unabhängige eingesetzt wird.

Wenn nun bei einigen Follikeln ein Missverhältnis zwischen Eikerngrösse und Epitheldicke zu finden ist, so berührt dieser Befund, wie obige Erwägungen zeigen, die wichtige Frage nach den Beziehungen zwischen Eizelle und Follikelepithel während der Entwicklung des Follikels. Es wurde deshalb geprüft, ob als Folge der Ovarbehandlungen eventuell eine allgemeine Lockerung der Korrelation zwischen Eikerngrösse und Epitheldicke entstanden ist. Zu diesem Zwecke wurden jene Follikel der behandelten Ovarien ausgemessen, welche durch den Eingriff anscheinend nicht beeinflusst worden sind, d.h. Follikel ohne nachweisbare histologische Veränderungen ihrer Zellen. Die Untersuchung musste sich auf diese „normalen“ Follikel beschränken, da in pathologisch veränderten mit nachträglichen Grössenverschiebungen durch Regressionsvorgänge gerechnet werden muss. Ebenso kamen aus technischen Gründen für diese Messungen nur die Stadien in Betracht, bei denen die Eikerne unzerschnitten bleiben (Stad. I—IV, Abb. 5).

In den mechanisch zerstörten und in den mit Röntgen bestrahlten Ovarien konnten je 20 „normale“ Follikel ausgemessen werden. Als unabhängige Bezugsgrösse wurde die Grösse des Eikerns gewählt. Die 40 Follikel gehören ihrer Eikerngrösse nach alle zu den Entwicklungsstadien II und III. Als normale Vergleichsfollikel wurden deshalb solche mit relativen Eikerngrössen zwischen 0,8 und 10,5 gewählt (s. Abb. 5). Diesen entsprechen nach Abb. 5 relative Follikelepitheldicken von 7—12. Die Messungen wurden auf die gleiche Art wie für Abb. 5 durchgeführt, nur wurde aus Gründen der Berechnung und der Darstellung für die Eikerne nicht der Inhalt des Rotationsellipsoides, sondern der Radius der damit inhaltsgleichen Kugel verwendet (konstantes Glied vernachlässigt).

In den drei Diagrammen von Abb. 17 sind je die 20 Wertepaare von Normalovarien (unten), von mechanisch zerstörten (Mitte) und von Röntgen-Ovarien (oben) aufgezeichnet. Die Kernradien sind auf der Abszisse, die zugehörigen Epitheldicken auf der Ordinate eingetragen. Die lang-kurz-lang gestrichelten Horizontalen bezeichnen die normale Minimaldicke 7 des Follikelepithels im Follikelstadium II, die kurz gestrichelten Horizontalen analog die normale Maximaldicke 12 im Follikelstadium III. Die beiden Horizontalen begrenzen also nach unten und oben das normale Intervall der Epitheldicke von Follikeln des II. bis III. Stadiums.

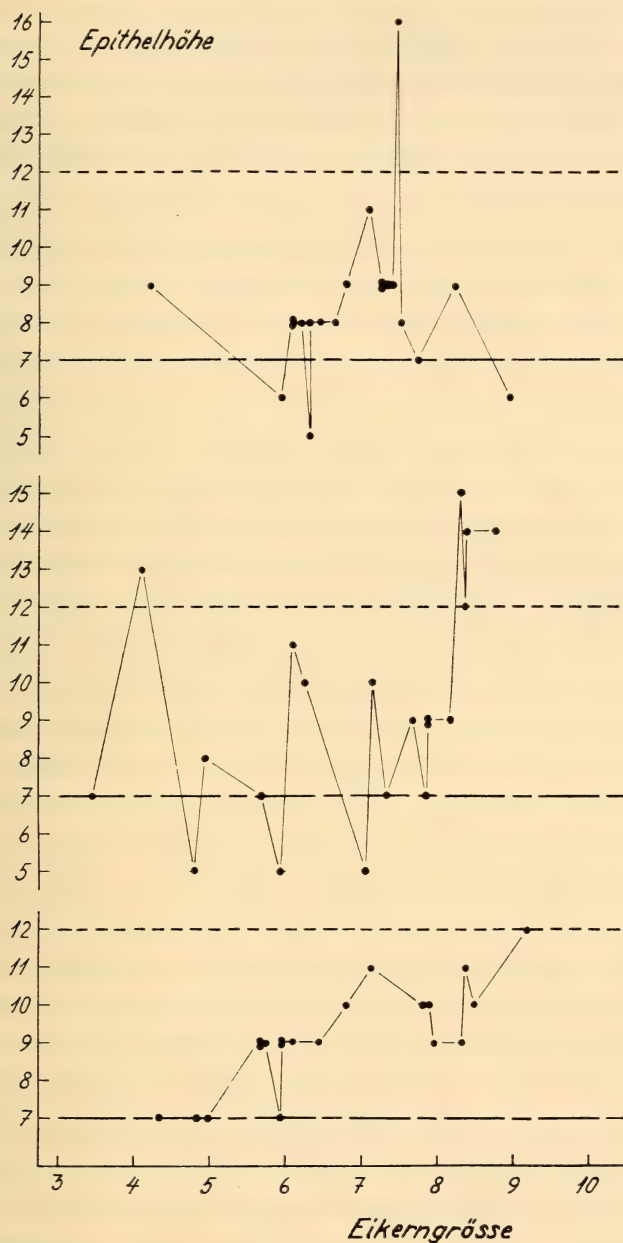


ABB. 17.

Das Verhältnis zwischen Eikerngrösse und Follikel-epitheldicke bei normalen (unten), mechanisch zerstörten (Mitte) und röntgenbestrahlten Ovarien (oben). Erklärung im Text.

Das Diagramm der normalen Ovarien zeigt trotz einer relativ breiten Variation deutlich das kontinuierliche Ansteigen der Follikelepitheldicke mit zunehmender Eikerngrösse. Bei den zwei andern Diagrammen ist bei gleichem Intervall der Eikernradien fürs erste eine sehr viel grössere Spannweite der Epitheldicken zu erkennen. Sie geht im mittleren Diagramm von 5—15 und im oberen von 5—16. Das bedeutet, dass in beiden Experimenten die Epithelien z.T. nicht einmal die Minimaldicke ihrer Klasse erreicht haben, anderseits aber auch Ausmasse zeigen, die älteren Follikelstadien entsprechen würden. Die extremen Werte verteilen sich in beiden Diagrammen regellos auf die verschiedenen Eikerngrössen, so dass die Kurven vollkommen gesetzlos um die Basislinie 7 schwanken. Die Berechnung der num. Korrelation bestätigt den Eindruck, den die graphische Darstellung vermittelt. Unter der Annahme, dass der Eikern die unabhängige Komponente sei, wurden die folgenden Bestimmtheitsmasse ($B = r^2$, LINDER 1945) erhalten: für die 20 Normalfollikel unbehandelter Ovarien beträgt $B = 0,64$; für die 20 Follikel aus mechanisch zerstörten Ovarien ist $B = 0,27$ und für die 20 Follikel der röntgenbestrahlten Ovarien 0,007. Das bedeutet, dass bei den Normalfollikeln 64% der Streuung der Epitheldicke auf die Veränderung der Eikerngrösse zurückzuführen sind, bei den Follikeln aus den mechanisch zerstörten Ovarien aber nur noch 27% und bei den Follikeln der röntgenbestrahlten Ovarien noch 0,7%. Dabei ist das Vorhandensein einer Korrelation zwischen Eikerngrösse und Epitheldicke bei den Normalovarien mit einem $P < 0,001$ stark gesichert, während sie für die mechanisch zerstörten Ovarien mit einem P zwischen 0,01 und 0,05 fraglich ist. Bei den Röntgenovarien liegt P weit über 0,05; damit fällt eine Korrelation ausser Betracht. Diese Zahlen zeigen klar, dass die Behandlung auch bei den Follikeln ohne histologisch feststellbare Zellschäden nicht ohne Wirkung geblieben ist. Sie hat zu einer starken Lockerung bzw. Aufhebung der num. Korrelation zwischen Eikerngrösse und Follikelepitheldicke geführt. Die Resultate der mechanischen und der Röntgenexperimente sind auch dafür gleichsinnig. Die Wirkung der Röntgenstrahlen ist ausgeprägter als die der mechanischen Zerstörung. Das Zahlenmaterial ist aber zum rechnerischen Nachweis der Signifikanz des Unterschiedes zu klein. Wie die Verschlechterung der Korrelation zu interpretieren ist

(vergl. S. 133), lässt sich aus der Verteilung der einzelnen Punkte in Abb. 17 herauslesen. Bei den mechanisch zerstörten Ovarien liegen bei drei Wertepaaren die Epitheldicken weit unterhalb der Basislinie 7. In diesen drei Follikeln ist demnach die Entwicklung des Epithels hinter der Eizellentwicklung zurückgeblieben. Bei vier Follikeln liegen dagegen die Werte für die Epitheldicke über der Grenzlinie 12. Hier ist also das Epithel weiter entwickelt als die Eizelle. Entsprechend blieb bei den Röntgenovarien in drei Follikeln die Epithelentwicklung hinter der Eizellentwicklung zurück, während sie in einem Fall stark vorseilt. Dass nun sowohl Eizelle als auch Follikelepithel in der Entwicklung vorausgehen können, zeigt, dass die beiden in ihrer Entwicklung gegenseitig voneinander unabhängig sind. Damit ist zugleich nachgewiesen, dass es erlaubt war, für die Berechnung der Korrelation die Eikerngrösse als Unabhängige einzusetzen.

Es bleibt noch der Bereich zu diskutieren, für den die Aussage über die Unabhängigkeit zwischen Eizelle und Epithel gültig ist. Die Korrelation wurde für Follikel des II. und III. Entwicklungsstadiums berechnet. Die gegenseitig unabhängige Differenzierung der beiden Follikelelemente ist deshalb mindestens für diese beiden Stadien festgestellt. Der Geltungsbereich des Befundes lässt sich aber noch erweitern, wenn die einzelnen Wertepaare untersucht werden. Die minimale, vom Epithel erreichte Dicke, ist 5. Das entspricht dem Follikelstadium I. Die Eizelle hat sich in diesen Fällen trotzdem bis zum II. resp. III. Stadium weiterentwickelt. Die Unabhängigkeit der Eizelle vom Follikelepithel gilt damit schon vom I. Stadium an. — Die maximale Dicke des Epithels beträgt 16. Das Epithel kann sich also bis zum IV. Stadium entwickeln, auch wenn der Eikern sich noch im III. Stadium befindet (Röntgen-diagramm). Entsprechendes zeigt das zweite Wertepaar des mittleren Diagrammes. Die Grösse des Eikernes entspricht mit 7,1 dem II. Stadium, das Epithel hat mit seiner Dicke von 13 die Maximaldicke für das III. Stadium überschritten. Obwohl die Extremwerte nur den Nachweis der Unabhängigkeit je des einen Partners liefern, so ist es doch wahrscheinlich, dass die gegenseitige Unabhängigkeit in der Entwicklung für die ganze Zeitspanne vom I. bis zum IV. Follikelstadium gilt.

Dieser mathematische Nachweis der unabhängigen Differenzierung darf in seiner Bedeutung jedoch nicht überschätzt werden.

Ein analoges Resultat ist unter Umständen auch möglich, wenn nur Intervalle unabhängiger Entwicklung bestehen, die von kurzen Phasen der Abhängigkeit unterbrochen sind, oder wenn der eine Partner zu seiner Weiterentwicklung doch gelegentliche Induktionswirkungen des andern empfangen muss. Alle aus der vorigen Korrelationsberechnung gezogenen Schlüsse gelten deshalb nur mit dieser Einschränkung.

d) *Zusammenfassung und Diskussion.*

Bei Ovarien verpuppungsreifer Larven, d.h. bei Ovarien, denen imaginale Differenzierungen wie Ovariolenstränge und Follikel noch vollständig fehlen, wurden durch Ausquetschen oder Aussaugen und durch Bestrahlen mit UV oder Röntgen die Keimzellen teilweise oder vollständig eliminiert. Trotz der Verschiedenheit der angewandten Mittel zeigen die so erhaltenen total oder partiell agametischen Ovarien identischen histologischen Bau.

In den *total agametischen Ovarien* erfolgt im zurückbleibenden somatischen Gewebe trotz der Abwesenheit der Keimzellen eine deutliche imaginale Differenzierung. Die Epithelialzellen schliessen sich zu Ovariolensträngen mit Terminalfilament, Germarium und Basisstiel zusammen (Abb. 12, 13). Diese Ovariolenstränge durchlaufen alle auch im Normalfall auftretenden Entwicklungsphasen, ausgenommen die Follikelabschnürung und die Ausbildung des kubischen Follikel epithels. Die Ovariolenstränge liegen im Ovarstroma (Zwischen- und Basisgewebe) eingebettet, dessen Abbau unterbleibt.

Die nur *partiell agametischen Ovarien* enthalten nebeneinander in bunter Vielfalt: ausgebildete Eier, normal aussehende, sowie pathologisch veränderte Follikel und — in der Hälfte der Fälle — ungeteilte Ovariolen von gleichem Bau wie in den total agametischen Ovarien (Abb. 15, S. 130). Die pathologischen Erscheinungen betreffen überwiegend die Keimzellen. Es handelt sich dabei um pyknotische Veränderungen in den Ei- und Nährzellen der verschiedensten Entwicklungsstadien mit z.T. letalem Ausgang. Es fällt besonders auf, dass die Reaktion auf die verschiedenen Insulte erst vier Zellgenerationen nach der Schadenssetzung auftritt. — Die Korrelation zwischen der Grösse des Eikernes und der Dicke des Follikel epithels ist gestört. Das beweist, zusammen mit der besonderen Verteilung der Einzelwerte in Abb. 17 (s. S. 135), die

gegenseitige Unabhängigkeit von Eizell- und Epitheldifferenzierung mindestens während der untersuchten Stadien II und III, bzw. I—IV der Follikelentwicklung. — Die Reduktion des somatischen Grundgewebes steht in Zusammenhang mit der Differenzierung der Keimzellen. In Ovarbezirken mit reifenden Follikeln ist sie vollständig, in agametischen Teilen unterbleibt sie.

Die *Diskussion* sei mit der Frage nach der unmittelbaren Wirkung der verschiedenen Behandlungen eröffnet. Es wurde schon früher auf die merkwürdige Verzögerung in der Manifestation der Behandlungsschäden an den Keimzellen hingewiesen (S. 131). In allen Experimenten traf der gesetzte Schaden die Keimzellen im oogonialen Stadium. Von einem Teil der betroffenen Oogonien kann angenommen werden, dass sie noch als solche ausgeschaltet wurden, sei es durch Verlust bei den mechanischen Experimenten, oder durch unmittelbar anschliessenden Zerfall in den Bestrahlungsexperimenten. Wurde eine genügende Menge von Keimzellen schon im oogonialen Stadium entfernt oder aufgelöst, so entstanden die agametischen Ovariolenschläuche. Von diesen enthielt sehr wahrscheinlich ein Teil zu Beginn noch eine gewisse Anzahl von sich später auflösenden Oogonien (Abb. 16). Viele der agametischen Ovariolen sind aber sicher bei vollkommener Abwesenheit von Keimzellen gebildet worden (vergl. die Entstehung agametischer Ovariolen bei GEIGY 1931).

Eine grosse Zahl der Oogonien, die dem Insult ausgesetzt waren, durchlief jedoch anschliessend noch die vier Umwandlungsteilungen zu den Oocyten I. Ordnung; ein Prozess, der — vom Moment der Behandlung an gerechnet — sich im Normalfall noch über eine Zeitspanne von 9—22 h erstreckt. Erst dann, nach dieser vierfachen Mitoseleistung, macht sich im Verlauf der langen Entwicklungszeit der Oocyte I, die nochmals 3—4 Tg umfasst, der vor vier Zellgenerationen gesetzte Schaden bemerkbar und führt unter den Nachkommen einer betroffenen Oogonie anscheinend zufallsmässig zum Absterben einer wechselnden Zahl von Geschwisterzellen. Dieses Verhalten der geschädigten Keimzellen lässt in erster Linie an genetische Vorgänge denken. Sowohl für die Röntgen- als auch für die UV-Experimente würde eine direkte Schädigung des Zellkernes, nach allen Erfahrungen über die genetische und zytologische Wirkung dieser beiden Strahlenarten, als gegeben erscheinen. Dennoch erheben sich beträchtliche Schwierigkeiten, wenn man

erklären will, wieso gerade in der vierten nachfolgenden Zellgeneration ein gehäuftes Absterben erfolgt. Von den Zellen vieler Lebewesen ist bekannt, dass sie nach Bestrahlung noch eine Mitose vor dem Absterben durchlaufen können. Zusammenfassungen über die Untersuchungen auf diesem Gebiet sind u.a. bei CARLSON (1950) und GRAY (1951) zu finden. Bei der vermutlich polyploiden *Amoeba proteus* (FRIEDRICH-FREKSA und KAUDEWITZ 1951/53) konnte festgestellt werden, dass die betroffenen Zellen auch zu mehr als nur einer nachfolgenden Mitose fähig sind. Nach Bestrahlen mit radioaktivem Phosphor war bei *Amoeba prot.* die Absterberate in der 5. Generation am grössten (ca 40%). Für eine schon höher differenzierte Metazoenzelle gestatteten uns die günstigen Verhältnisse bei der Oocytogenese von *Drosophila* die sichere Feststellung von vier nachfolgenden Mitosen. Der Zellzusammenbruch erfolgt also bei *Amoeba* und *Drosophila* nach einer physiologisch weitgehend übereinstimmenden Zeitspanne. — Eine Zusammenfassung über die Experimente an Amphibien mit entsprechend verzögerter Schädigung findet sich bei RUGH (1954).

Eine noch viel stärker verzögerte Reaktion erhielten FRIEDRICH FREKSA und KAUDEWITZ, wenn sie statt zu bestrahlen, den radioaktiven Phosphor in die Chromosomen einbauten. Sie glauben daher, dass die Reaktionsverzögerung auf der Schädigung von Elementarteilchen der Gene (Elementarfibrillen der Chromosomen) beruht. Durch Segregation im Verlauf der Generationen würde dann der Schaden manifest. Die Berechnung der Absterberate auf Grund der Annahme von 2—16 Elementarfibrillen ergeben aber für *Amoeba* Werte von ganz anderer Grössenordnung, als sie bei unseren Experimenten an *Drosophila* verwirklicht sind. Bei der Annahme von 2 Elementarfibrillen pro Chromosom würde das Letalitätsmaximum in der 2. Generation liegen und zwar würden hier 17% der Abkömmlinge behandelter Zellen absterben; bei der Annahme von 4 Elementarfibrillen dagegen würde das Letalitätsmaximum von nur noch 2,5% erst etwa in der 7. Generation erreicht (Werte aus den Abbildungen von FRIEDRICH-FREKSA und KAUDEWITZ 1953 entnommen bzw. geschätzt). Demgegenüber ist bei unseren Experimenten in vielen Follikeln eine 100%ige Letalität in der 5. Generation verwirklicht. Diese Werte zeigen, dass es sich hier trotz der Verzögerung in der Manifestation um gröbere Genomschäden handeln muss, wie man sie als Folge von Bestrahlung mit

Röntgen und UV in mannigfaltiger Ausbildung kennt. Dies alles gilt natürlich immer unter der Voraussetzung, dass es sich überhaupt um einen Kernschaden handelt. Bei *Amoeba prot.* könnte die verzögerte Strahlenwirkung mit der vermuteten Polyploidie zusammenhängen. Trotz des mehr oder weniger übereinstimmenden Zeitpunktes, in dem die Zellen absterben, wird man daher die Vorgänge bei *Amoeba* und *Drosophila* nicht ohne weiteres miteinander vergleichen können. Die Erklärung, wieso bei *Drosophila* ein grober, letal wirkender Genomschaden erst nach verschiedenen Teilungen, dann aber bei etlichen Zellen zugleich, sich auswirkt, ist schwieriger. Es muss hier eines auffallen: der Zusammenbruch der geschädigten Keimzellen erfolgt in einer Periode gesteigerter Anforderungen. Die Oocyte I muss wachsen und ihr Volumen um ein Vielfaches vergrössern. Dagegen erfolgt während der Umwandlungsteilungen nahezu kein Wachstum, dieses setzt erst nach der vierten Teilung ein. In den heranwachsenden Nährzellen spielen sich ausserdem endomitotische Vorgänge ab und die Sekretionsphase muss eingeleitet werden. Hierin liegt vielleicht der Grund zum plötzlichen Zusammenbruch in der 5. Generation. Für die Mutante *lgl* macht GLOOR (1943) ebenfalls darauf aufmerksam, dass die schädigende Wirkung des Genes erst in der Wachstumsphase der Keimzellen manifest wird. Der Verlust bestimmter Gene könnte sich erst dann bemerkbar machen, wenn ihre Funktion für die Zelle lebensnotwendig wird. Dies würde dem von HADORN (1948) formulierten Prinzip des stufenweisen Geneinsatzes entsprechen.

Bei den vorliegenden Experimenten tritt nun aber eine zufallsmässige und über 4 Zellgenerationen verzögerte Wirkung des Insultes nicht nur bei den Strahlenexperimenten, sondern auch nach der einfachen mechanischen Beschädigung ein. Hier aber ist die Annahme einer primären Kernschädigung recht unwahrscheinlich. Eine direkte mechanische Beschädigung von Zellkernen beim Zerstören der Ovarien ist, besonders mit einer solchen Häufigkeit, wie man sie bei der grossen Zahl pathologischer Oocytengruppen voraussetzen müsste, nicht gut möglich. Viel eher ist anzunehmen, dass durch die Verletzung in erster Linie das Zytoplasma betroffen wird. Wie sind unter diesen Umständen die identischen Resultate von Strahlen- und mechanischen Experimenten zu verstehen?

EPHRUSSI (1951) hat bei Hefen die Existenz autoreproduktiver Plasmapartikel, die entscheidend in das Zellgeschehen eingreifen, wahrscheinlich gemacht. Bei den Strahlenexperimenten besteht ohne weiteres die Möglichkeit, dass solche Partikel geschädigt und soweit dezimiert werden könnten, dass ihre Anzahl nach der viermaligen — zufälligen — Verteilung nicht mehr in allen Zellen zur Aufrechterhaltung der lebensnotwendigen Vorgänge genügt. Für die verzögerte Wirkung wäre dann nicht, wie bis jetzt angenommen, ein Genom — sondern ein irreparabler Plasmonschaden verantwortlich. Nun müsste aber auch für die Keimzellen mechanisch verletzter Ovarien das Absinken der Partikelzahl unter das notwendige Minimum erklärt werden. Der Hinweis auf den mit einer Verletzung möglicherweise verbundenen Plasmaverlust dürfte dazu nicht genügen. Einmal fallen nicht notwendigerweise nur verletzte Zellen in der Folgezeit aus. Zum andern ist es fraglich, wie weit Zellen, die grosse Teile ihres Zytoplasmas verloren haben, regenerationsfähig sind. Nach den bisherigen Erfahrungen kommen autoreproduktive Plasmapartikel aber meist in grossen Mengen im Zytoplasma vor, so dass nur ein wirklich einschneidender Zytoplasmaverlust ihre Anzahl wirksam verringern könnte. Damit wird auch mit der Annahme von Plasmapartikeln die Erklärung der Manifestationsverzögerung nicht weniger schwierig. Eine Schädigung von Plasmapartikeln kann bei den mechanischen Experimenten ebensowenig wie eine Kernschädigung ohne zusätzliche Hypothese angenommen werden.

Da in unseren Experimenten mechanische Zerstörung und Bestrahlung zu den gleichen Resultaten führten, wird man sich immer fragen müssen, welche identischen primären Vorgänge sich nach den zwei verschiedenen Behandlungsarten im Gewebe abgespielt haben konnten. Es wäre hier z.B. an die Entstehung besonderer Stoffe — Zersetzungsprodukte — zu denken, deren Bildung sowohl in mechanisch verletzten als auch in bestrahlten Zellen zu erwarten ist. Diese Stoffe könnten ebenso gut als Plasma- wie als Kerngifte wirken und damit Ursache der späten Letalität sein. Dass chemische Eingriffe wirklich zum gleichen Schädigungsbild wie nach mechanischer Zerstörung oder Bestrahlung führen können, zeigt die Behandlung von Ovarien des letzten Larvenstadiums von *Dros. mel.* mit Colchicin *in vitro* (HADORN 1946). Dieses Experiment vermittelt auch einen Einblick in den

möglichen Mechanismus der Zellschädigung. Colchicin ist als Spindelgift bekannt. Seine mosaikartige Wirkung auf die Oogonien von *Drosophila* bei unveränderter Mutationsrate in der Nachkommenschaft lässt HADORN schliessen, „dass die beobachteten letalen Zellschäden in den behandelten Ovarien nicht auf Genmutationen (dominanten Letalfaktoren) sondern auf der Entstehung nicht-balancierter Chromosomensätze oder andern Mitosestörungen beruhen.“ Auch AUERBACH und MOSER (1953) erhielten chemisch induzierte und verzögerte Wirkungen auf die Keimzellen durch Züchten von männlichen *Drosophilalarven* auf Formalinfutter. — Im Zusammenhang mit der Möglichkeit primärer chemischer Vorgänge interessieren noch die Untersuchungen von STONE u. Mitarb. (1947/1948) an *Staphylococcus aureus*, bei dem eine Erhöhung der Mutationsrate durch UV-Bestrahlung des Kulturmediums vor der Beimpfung mit den Kokken erreicht wurde. Für die Erhöhung der Mutationsrate machen die Autoren die Veränderung des Zytoplasmas verantwortlich, die dadurch hervorgerufen wird, dass im bestrahlten und dadurch chemisch veränderten Kulturmedium der Stoffwechsel verändert ist. Versuche von SCHLIEP (1923) an *Arbacia*-Eiern ergaben Kernabnormitäten nach ausschliesslicher Bestrahlung des Eiplasmas. An *Dros. mel.* konnten BONNIER u. Mitarb. (1952) eine Zunahme der Mutationsrate des X-Chromosoms des befruchtenden Spermiums in Eiplasma, welches vor der Befruchtung bestrahlt wurde, wahrscheinlich machen. Alle diese Experimente deuten darauf hin, dass chromosomale Veränderungen ihren Ursprung auch in zytoplasmatischen Vorgängen haben können.

Es muss noch die Möglichkeit erwähnt werden, dass bei den mechanischen Experimenten nicht nur die Verletzung an sich, sondern auch die zur Sektion verwendete Holtfreterlösung die Zellen schädigen könnte. HADORN und FRITZ (1950) haben an weiblichen Genitalscheiben eine gewisse Reizwirkung von hyper- und hypotonischen Salzlösungen festgestellt. Dagegen wurde bei den vielen Ovartransplantationen nie ein schädigender Einfluss der Holtfreterlösung beobachtet. Doch auch bei Vorliegen einer solchen Schädigung würde an den in der Diskussion vorgebrachten Argumenten für eine indirekte Kernschädigung nichts geändert.

Eine Entscheidung zwischen den verschiedenen diskutierten Ursachen der verzögerten Letalität kann nicht getroffen werden. Die Annahme einer Genomveränderung, die bei den mechanischen Experimenten eine Folge plasmatischer Vorgänge wäre,

erscheint vorläufig als die wahrscheinlichere, da sie weniger mit Hypothesen belastet ist als die Annahme einer irreparablen Plasmaveränderung. Es fragt sich sogar, ob nicht auch bei den Röntgen- und den UV-Experimenten primär eine Veränderung des Zytoplasmas erfolgte, die erst sekundär zum Kernschaden führte oder ob nicht doch wenigstens neben dem primären Strahleninsult des Kernes eine sekundäre Kernschädigung zur Auswirkung kam, die durch den veränderten Zellchemismus hervorgerufen wurde.

Von den mittelbaren Folgen der experimentellen Behandlung larvaler *Drosophila*-Ovarien ist die Entstehung ungeteilter agametischer Ovariolen am eindrucklichsten. Diese agametischen Ovariolen entsprechen den von GEIGY (1931) und ABOIM (1945) beschriebenen „cordons cellulaires“ resp. „ovarioles agamétiques“ (s. S. 127 ff), welche eine von den Keimzellen vollkommen unabhängige Leistung des Gonadensomas darstellen, denn ihre Bildung erfolgte, ohne dass Keimzellen je mit der mesodermalen Gonadenanlage in Berührung standen. Dagegen musste für die Follikelbildung eine solche Abhängigkeit postuliert werden, denn ihre Abtrennung unterblieb, obwohl das somatische Gewebe nie einer schädigenden Wirkung ausgesetzt war, ausser dass eben die Keimzellen fehlten. In unsern Experimenten verblieben die Keimzellen im Gegensatz zu den Experimenten von GEIGY und ABOIM während der ganzen Embryonal- und Larvalentwicklung innerhalb des Gonadensomas. Trotzdem unterblieb auch hier die Follikelbildung. Die Differenzierungsleistung der erst spätlarval agametisch gewordenen Ovarien übertrifft in keiner Weise diejenige der *ab origine* agametischen Gonaden. Das bedeutet aber, dass die Keimzellen während der ganzen Zeit der Embryonal- und Larvalentwicklung keinerlei Einfluss auf die Entwicklung des somatischen Ovargewebes ausüben; sei es, dass sie während der Zeit noch keine diesbezügliche Aktivität entfalten, sei es, dass die Epithelialzellen zur Aufnahme einer solchen Wirkung noch nicht kompetent sind. Die Entwicklung der Epithelialzellen verläuft während dieser ganzen Zeit in Bezug auf die Keimzellen rein mosaikartig.

Es liesse sich hier einwenden, dass die Follikelbildung auch zufolge einer experimentell bedingten Schädigung der Epithelialzellen ausgefallen sein könnte. Es wäre dann aber sowohl durch das Operationstrauma wie durch den UV- und Röntgeninsult gerade nur diese spezifische Fähigkeit der Epithelialzellen unterbunden worden, da sie sich ja im übrigen imaginal differenzieren. Bedenkt man zudem die Übereinstimmung zu den Ovariolen primär agametischer Ovarien bei GEIGY und ABOIM, so kann diese Möglichkeit ausgeschlossen werden.

Mit der Berechnung der num. Korrelation zwischen Eikerngrösse und Follikel epitheldicke (s. S. 133 ff) wurde wahrscheinlich gemacht, dass die Entwicklung auch während der Follikelstadien II—III (bzw. I—IV) mosaikartig verläuft. Da aber nach wie vor nicht daran gezweifelt werden kann, dass die Keimzellen für die vollständige imaginale Differenzierung der Epithelialzellen unentbehrlich sind, bleibt nach diesen Ergebnissen weiterhin die Frage offen, wann und unter welchen Bedingungen die Keimzellen in die Entwicklung des Gonadensomas eingreifen. Einen Hinweis für die Beantwortung dieser Frage geben die nur partiell agametischen Ovarien. Das Vorhandensein weit entwickelter Keimzellen in einem Ovar verhindert nicht, dass benachbarte taube Ovariolen ungeteilt bleiben. Es ist merkwürdig, dass in solcher Lage überhaupt agametische Ovariolen entstehen können und sich die Epithelialzellen nicht vollzählig um die in der Nähe liegenden Keimzellen gesammelt haben. Es ist dies ein weiteres Indiz dafür, wie unabhängig sich die Ovariolenbildung vollzieht. Dass diese agametischen Ovariolen dazu auch noch ungeteilt bleiben, zeigt, dass die Keimzellen nur einen sehr kleinen Einflussbereich besitzen und nur auf diejenigen Epithelialzellen einwirken können, die ihnen unmittelbar anliegen; nicht aber allgemein die Entwicklung im Ovar beeinflussen. Das lässt vermuten, dass der Beginn ihrer Aktivität nicht vor ihrem Einschluss in die Ovariolen, d.h. frühestens 6—8 h nach der Pupariumbildung zu erwarten ist, da ihnen erst dann ein Verband von Epithelialzellen zugeordnet ist.

Für das Verhältnis von Keimzellen und Epithelialzellen gibt es prinzipiell zwei Möglichkeiten: 1. Die Entwicklung der Epithelialzellen erfolgt (von einem gewissen Zeitpunkt an) in ständiger oder periodischer Abhängigkeit von der weiterschreitenden Entwicklung der Keimzellen. 2. Es besteht eine kurze Phase, während der die

Follikelbildung durch die Keimzellen induziert wird. Vor und nach dieser Phase verläuft die Entwicklung mosaikartig. — Die erste Möglichkeit kann auf Grund der vorliegenden Ergebnisse weitgehend ausgeschlossen werden. Es muss deshalb in erster Linie eine zeitlich begrenzte Induktionsphase postuliert werden. In den nachfolgend beschriebenen Untersuchungen wird versucht, Nachweis und Bestimmung dieser Induktionsphase zu erbringen.

2. AUSSCHALTUNG DER KEIMZELLEN BEI VORPUPPEN UND PUPPEN.

Sterilisationsversuche an älteren Tieren als verpuppungsreifen Larven müssen nicht notwendigerweise andere Befunde liefern, als sie für die partiell agametischen Ovarien des vorangehenden Kapitels beschrieben wurden. Bei den nur partiell agametischen Ovarien wurden die Keimzellen ja in den verschiedensten und z.T. sehr fortgeschrittenen Entwicklungsstadien blockiert (S. 128 ff). Soweit die Entwicklung des Gonadensomas nur vom erreichten Entwicklungsstand der Keimzellen abhängt, sind deshalb nach später Schädigung identische Leistungen zu erwarten, wie nach später Blockierung auf frühe Schädigung hin. Dennoch kann man von Versuchen an aufeinanderfolgenden spätern Entwicklungsstadien neue Aufschlüsse erhoffen. Einmal lässt sich bei den überlebenden Keimzellen der bisherigen Experimente zwar feststellen, wie weit sie sich entwickelt haben, nicht aber, wie lange sie auch normal funktionierten. Zweitens ist die Struktur der partiell agametischen Ovarien derart unübersichtlich, dass immer nur für die dem Calyx unmittelbar anliegenden Bezirke mit Sicherheit festgestellt werden kann, ob und wie stark der Entwicklungsgrad der Keimzellen von der Norm abweicht und in welcher Entwicklungsphase sie von der Behandlung getroffen wurden. Die verschiedenen Entwicklungsstufen innerhalb der Ovariolen eines Ovars, die in der ungestörten Gonade in gleicher Höhe nebeneinander liegen und ihren stockwerkartigen Aufbau bedingen, sind im partiell agametischen Ovar gegeneinander verschoben. Es kann deshalb nicht mehr bestimmt werden, welcher Ausbildungsgrad den einzelnen Keimzellgruppen normalerweise zukommen würde. Damit bleiben manche Befunde der Beurteilung entzogen und Zusammengehörendes kann infolge der gestörten Lagebeziehung nicht erkannt

werden. Wird dagegen an aufeinanderfolgenden Entwicklungsstadien experimentiert, kann für jedes Experiment basal eine Häufung gleichsinniger, von Experiment zu Experiment jedoch verschiedener Abweichungen erwartet werden, deren Beziehung zum jeweiligen Behandlungsstadium damit klar ersichtlich ist. Umgekehrt werden mit zunehmendem Behandlungsalter gewisse Abweichungen verschwinden. So muss vor allem angenommen werden, dass von einem gewissen Zeitpunkt an keine ungeteilten Ovarienschläuche mehr vorkommen. Liegt dieser Zeitpunkt vor dem normalen Entstehungsalter der Follikel, dann bildet das Verschwinden der ungeteilten Ovarien den sichersten Nachweis für das Bestehen einer zeitlich begrenzten Induktionsphase der Follikelbildung.

a) *Material und Technik.*

Die Sterilisationsversuche an Ovarien des Vorpuppen- und Puppenstadiums konnten nur noch *in situ* mittelst Röntgenbestrahlung durchgeführt werden. Versuche, Vorpuppen- und Puppenovarien nach mechanischer oder UV-Behandlung zu implantieren, misslangen, da in diesem Alter die innere Festigkeit der Ovarien so gering ist, dass sie sich nicht unverletzt injizieren lassen. Die Implantate zerfallen, wodurch eine sichere Interpretation der Resultate unmöglich wird. Damit fällt allerdings die Möglichkeit weg, eventuelle Minderleistungen des somatischen Gewebes infolge der Röntgenbestrahlung durch Vergleich mit andersartigen Experimenten zu erkennen. Die Erfahrungen bei den Larvenexperimenten zeigen jedoch, dass diese Fehlerquelle wenig ins Gewicht fällt (s. S. 114).

Auch die Röntgenbestrahlungen misslangen zuerst. Von den bestrahlten Tieren (Larven, Vorpuppen, Puppen) schlüpften nur vereinzelte Imagines, obwohl sie sich äusserlich normal entwickelten. Sie liessen jedoch fast ausnahmslos die peristaltikartigen Bewegungen des Abdomens vermissen, die das Schlüpfen einleiten. Das erweckte den Verdacht auf eine Schädigung motorischer Zentren; und wirklich kann eine Schlüpftrate von 80—90% erreicht werden, wenn bei der Bestrahlung die vorderen zwei Körperdrittel abgeschirmt werden, wodurch die Ganglien der Strahlenwirkung entzogen bleiben. Alle Röntgenbehandlungen wurden deshalb in der folgenden Anordnung ausgeführt:

Ein 2 mm dickes, quadratisches Bleiplättchen von 2,5 cm Seitenlänge, versehen mit einem zentralen Fenster von 1,5 cm Durchmesser (Feldgrösse der verwendeten Röntgenröhre 2 cm Durchmesser), wurde mit Ultraphanfolie (Waser & Co, Zürich) überklebt. Die Tiere wurden mit etwas Wasser, Rücken gegen die Folie, auf dieser rund um das Fenster in der Weise festgeklebt, dass nur das hintere Körperdrittel mit den Gonaden in die Fensteröffnung hineinragte. Das Bleiplättchen wurde,

die Tiere nach unten, auf einen gläsernen Salznapf gelegt und von oben bestrahlt (Abb. 18). Auf diese Weise konnten gleichzeitig rund 50 Tiere in identischer Stellung im zentralen Bereich des Röntgenfeldes bestrahlt werden.

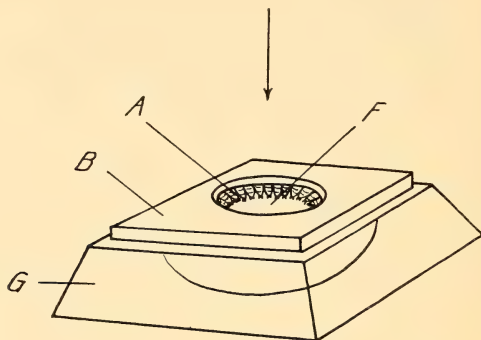


Abb. 18.

Bestrahlungsanordnung. A Abdomina; B Bleiplatte; F Fenster; G Glasnapf. Der Pfeil gibt die Strahlenrichtung an.

Die Dosen wurden in einem Male appliziert. Bestrahlt wurde mit extra weichen Strahlen (Dosisabfall 12% in 1 mm menschlicher Haut, Feldstärke 2 mA/50 kV, 1 mm-Aluminiumfilter und 18 mm Abstand). Die Minutendosis betrug 1230 r.

Es zeigte sich, dass bei den Keimzellen die Empfindlichkeit gegenüber der Bestrahlung nach der Puparisierung sinkt. Bei den Epithelialzellen besteht gegen Ende des 1. Puppentages erhöhte Empfindlichkeit. Ohne nennenswerte Somaschäden hervorzurufen, durften appliziert werden: im Alter von 7 h.n.P. 4500 r, von 24 h.n.P. 3500 r (!), von 48 h.n.P. 4500—5000 r, von 72 und 97 h.n.P. 5000—5500 r. Der Empfindlichkeitsunterschied zwischen somatischen Zellen und Keimzellen wird mit zunehmendem Alter immer kleiner. Er ist am grössten bei den verpuppungsreifen Larven, nachher fällt er ziemlich rasch ab. — Im Alter von 7—24 h.n.P. bestrahlte Tiere mussten spätestens 2—3 Tg nach dem Schlüpfen als Imagines seziert werden, da sie um diese Zeit an Darmverschluss starben. Dasselbe gilt auch für die larval bestrahlten Tiere. Die Bestrahlung muss in dieser Periode eine sensible Phase der Enddarmbildung erfassen, denn dieser war entweder nur mangelhaft ausgebildet und ohne Verbindung mit dem unmittelbar hinter den Malpighischen Gefässen blind endenden Mitteldarm, oder er fehlte vollständig. Das Mündungsgebiet der Malpighischen Gefässe war dabei in allen Fällen intakt geblieben. Dieser Befund ist verständlich, seit POULSON (1950) im Gegensatz zu früheren Autoren feststellen konnte, dass die Malpighischen Gefässe noch zur entodermalen Mitteldarmanlage gehören und die Grenze zum ektodermalen Enddarm erst distal davon liegt.

TABELLE 3.

Bestrahlungs- Alter	Dosis in r	Sektions- alter (Imago)	Anzahl der untersuch- ten Ovarien	Anzahl der stark redu- zierten Ovarien
Larven v.P. . . .	4 500	2 Tg	41	27
7—8 h.n.P. . . .	4 500; 5 000	»	61	25
12 » . . .	3 500; 4 000	»	19	15
17½ » . . .	3 500	»	22	19
24 » . . .	3 500	»	27	16
72 » . . .	5 000; 5 500	4 Tg	45	34
Total			215	136

Zusammenstellung über Strahlendosen und Erfolgsquoten bei den mit Röntgenstrahlen behandelten Entwicklungsstadien.

Eine Zusammenstellung über Bestrahlungsalter, Dosis, Ausbeute u.s.w. gibt Tab. 3. Zur Vereinfachung seien im folgenden die im Alter von 7, 24, usw. Stunden nach der Pupariumbildung bestrahlten und am dritten Imaginaltag untersuchten Ovarien auch als adulte 7 h.n.P.—, 24 h.n.P.— usw. Röntgenovarien bezeichnet.

b) Bestrahlung im Alter von 7—8 h.n.P. (Vorpuppen).

Im Alter von 7—8 h.n.P. ist im Ovar eben erst der basale Abschluss der Ovariolen vollzogen und alle Oogonien sind in die Ovariolen eingeschlossen. Die ersten oocytogenetischen Umwandlungsteilungen haben eingesetzt (s. Tab. 1a, S. 103).

Die äussere Entwicklungsleistung und das histologische Bild der adulten 7—8 h.n.P.-Röntgenovarien weisen gegenüber den larval behandelten nur geringfügige Unterschiede auf. Der Schädigungsgrad variiert wenig. Alle anormalen Bildungen, die bei den larval behandelten Ovarien beschrieben wurden, darunter als wichtigste die ungeteilten agametischen Ovariolenschläuche, treten in gleicher Weise auch hier auf. Neu ist bei den praepupal bestrahlten Ovarien eine gewisse Tendenz zur Verschmelzung der Ovariolenbasen. Mehrfach sind mit den Basisstielen verbundene agametische Ovariolen gefunden worden. In einem Fall mündeten zwei sonst agametische Ovariolen in den ersten Basalfollikel einer dritten Ovariole, die Keimzellen führt. Die sonst äusserst strenge Isolierung zwischen den einzelnen Ovariolen ist hier gestört. Die Bildung der

Basisstiele und der Basalfollikel erfolgt erst nach der Bestrahlung (s. Abb. 2, b und e). Es gehen ihr Mitosen der Epithelialzellen voraus. Die Missbildungen der Basis dürften damit in Zusammenhang stehen. Infolge der regeren Mitosetätigkeit im basalen Bereich wird hier eine erhöhte Empfindlichkeit der Epithelialzellen gegenüber Röntgenstrahlen bestehen.

Interessanter als die Verschmelzungen an der Basis sind agametische Ovariolen, bei denen eine Art „unechter Follikelbildung“ stattgefunden hat. (Abb. 19, Pf). Sie weisen mehrere Einschnürungen (E) auf. Es werden jedoch weder richtige Follikel noch richtige, zellig gegliederte Follikelstiele ausgebildet. Die Interpretation ist nicht einfach. Diese Ovariolen sind nur wenig zellig, ihre Endfilamente sind relativ breit. Nach diesen Merkmalen handelt es sich um wenig weit entwickelte Ovariolen. Sind die Einschnürungen dadurch entstanden, dass Zellen sich nach der Bestrahlung aufgelöst haben, oder kündigt sich hier eine erste, noch unvollständige Induktionswirkung der Keimzellen an?

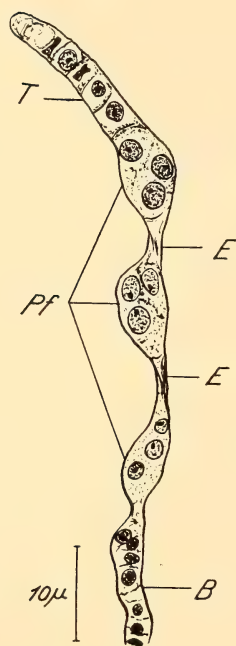


ABB. 19.

Agametische Ovariole mit Pseudofollikeln aus einem adulten 8 Std.n.P.-Röntgenovar. B Basalstiel; E Einschnürungen; Pf Pseudofollikel; T Terminalfilament. Längsschnitt.

Bei etlichen agametischen Ovariolen ist der erste Basalfollikel abgeschnürt. Diese Follikel enthalten aber alle noch Überreste von Keimzellen. Offenbar haben sich hier Keimzellen nach der Bestrahlung noch weit genug entwickeln können, um die Bildung des ersten Follikels anzuregen. Die grosse Zahl völlig ungeteilter Ovariolen spricht hingegen nicht dafür, dass die Keimzellen im Moment der Bestrahlung basal zur Induktion schon fähig gewesen waren.

Die Befunde an dieser Serie bestätigen die in der Diskussion des vorigen Kapitels (s. S. 145) geäusserte Vermutung, wonach vor dem Einschluss der Keimzellen in die Ovariolen keine Follikelinduktion erfolgt.

c) *Bestrahlung im Alter von 24 h.n.P.*

Im Alter von 24 h.n.P. enthalten die Puppenovarien fertig gebildete, aber noch ungeteilte Ovariolen (s. Abb. 2d). Basal, in den fortgeschrittenen Ovariolen bis gegen die Mitte hin, sind die oocytogenetischen Umwandlungsteilungen beendet. Frisch gebildete Oocyten I sind an ihrer geringen Grösse (Grössenklasse I, s. S. 106) ohne weiteres zu erkennen. Heranwachsende Oocyten I können dagegen von Oogonien oder Umwandlungszellen erst wieder unterschieden werden, wenn sie die Oogoniengrösse überschritten haben, bzw. wenn die Eizelle morphologisch von den übrigen Keimzellen abweicht.

In diesem Entwicklungsstadium bestrahlte Ovarien zeigen adult gegenüber den mit 7—8 h.n.P. oder früher behandelten einen ganz andern Zustand. Während bis dahin die ungeteilten agametischen Ovariolen das beherrschende Strukturelement sind, fehlen solche jetzt bis auf zwei Ausnahmen. Alle Ovariolen sind mindestens basal in Follikel unterteilt. Diese generelle Follikelbildung ist insofern nicht auffallend, als alle Ovariolen noch Keimzellen enthalten. Die relativ niedrige Dosis von 3500 r, welche ohne Schädigung des somatischen Gewebes appliziert werden durfte, reichte in diesem Alter nicht zur Auflösung der Keimzellen aus. Wir mussten uns damit begnügen, deren möglichst vollständige Entwicklungshemmung zu erreichen. Eine grosse Anzahl Ovariolen enthält basal und in der Mitte wenigstens noch z.T. die kleinen Oocyten I des Bestrahlungsstadiums. Aber auch diese Ovariolen haben basale Follikel, obwohl die Keimzellen das Entwicklungsstadium, das sie normalerweise zu Beginn der Follikelbildung einnehmen, noch nicht erreicht haben. Auf alle Fälle fehlen an vielen Orten distinkte Eizellen, wie sie zur Zeit der Follikelbildung vorhanden sein sollten (s. Abb. 2e). (Das Fehlen distinkter Eizellen ist allerdings kein ganz sicherer Beweis dafür, dass sich die Keimzellen hier nicht bis zu ihrem richtigen Stadium entwickelt haben. Die Eizellen könnten selektiv geschädigt und resorbiert sein. Die genauere Analyse eines Follikels mit zu jungen Keimzellen folgt auf S. 154 ff.)

Neben den mehr oder weniger vollständig in ihrer Entwicklung gehemmten Keimzellen kommen wie in den partiell agametischen Ovarien der Larvenexperimente auch alle Altersstufen anscheinend

normaler oder pyknotisch veränderter Keimzellen vor. Es können auch apicaler liegende Keimzellen, d.h. gemäss der von unten nach oben fortschreitenden Entwicklung des Ovars jüngere Keimzellen, sich weiter entwickelt haben als basaler gelegene der gleichen

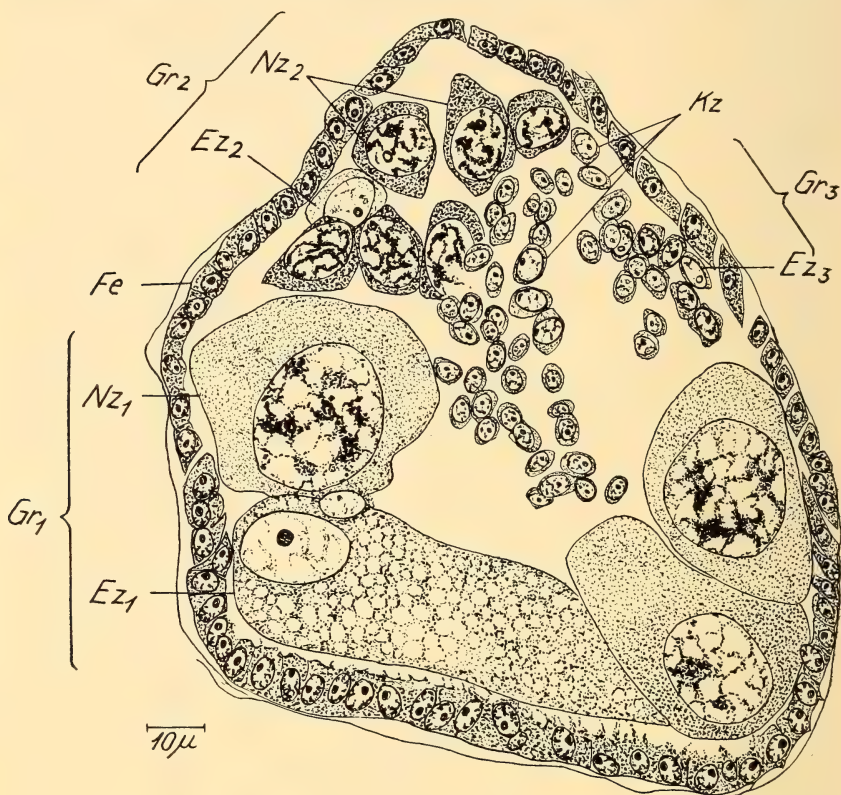


ABB. 20.

Sammelfollikel aus einem adulten 24 Std.n.P.-Röntgenovar. Drei Nachbarschnitte kombiniert. Ez₁₋₃ Eizellen der Keimzellgruppen 1—3; Fe Follikel-epithel; Gr₁₋₃ Keimzellgruppen; Kz junge Keimzellen vor der morphologischen Differenzierung in Eizellen und Nährzellen; Nz₁₋₃ Nährzellen der Keimzellgruppen 1—3. Längsschnitt.

Ovariole. Sie müssen sich im Moment der Bestrahlung in einer weniger sensiblen Periode als die älteren befunden haben, die eventuell noch mitten in der Phase der Umwandlungsteilungen getroffen wurden.

Wenn also infolge der Anwesenheit von Keimzellen die Tatsache der Follikelbildung an und für sich nicht ohne weiteres bemerkenswert ist, so fällt umso mehr der Ausbildungsgrad und die Zusammensetzung dieser Follikel auf. Normal gebildete Follikel sind in der Minderzahl. Zwar sind die Follikelepithelien typisch ausgebildet. Sie umschliessen aber nicht nur vielfach zu junge Keimzellen, sondern in den meisten Fällen auch mehr als eine Sechzehnergruppe von Keimzellen. Sie seien deshalb als Sammelfollikel bezeichnet. Der in Abb. 20 dargestellte Sammelfollikel enthält z.B. drei distinkte Eizellen (Ez_{1-3}). In andern wurden bis vier Eizellen gezählt. Wahrscheinlich kommen auch noch mehr vor, doch ist ihre Anzahl nur dort sicher feststellbar, wo die Eizellen von der übrigen Oocyten I schon morphologisch verschieden sind. Die verschiedenen Keimzellgruppen stimmen im Entwicklungsgrad meist nicht überein. Der Sammelfollikel von Abb. 20 enthält nebeneinander eine älteste Gruppe (Gr_1) des IV. Follikelstadiums (s. S. 112) mit dotterhaltiger Eizelle (Ez_1), eine jüngere Gruppe (Gr_2), die am Beginn der endomitotischen Teilungen in den Nährzellen steht (Nz_2) und eine weitere (Gr_3), bei der die Eizelle eben als solche zu erkennen ist (Ez_3). Ausser diesen drei Gruppen enthält der Follikel noch eine grosse Zahl weiterer Keimzellen (Kz) von der Grösse frisch gebildeter Oocyten I bis zu der Grösse von Oogonien; d.h. Keimzellen, die entweder Oogonien, Umwandlungszellen oder heranwachsende Oocyten I sind. Dass sogar Oogonien wie auch Umwandlungszellen darunter sein können, zeigt die Tatsache, dass in einigen Follikeln Mitosen, und zwar sowohl Einzelmitosen als auch Zweier-, Vierer- und Achter-Mitosegruppen zu finden sind. In extremen Fällen können kleinste, frisch entstandene Oocyten I zwischen eine grosse dotterhaltige Eizelle und ihre Nährzellen eingeklemmt sein. In ein paar Follikeln werden zwei Eikerne von der gleichen Plasmamasse umschlossen. Es kommt auch vor, dass von zwei sich gegenüberliegenden Eizellen beide Dotterschollen gebildet haben. Bei zu Ende geführter Entwicklung muss deshalb die Bildung von Zwillings-, bzw. bei noch mehr Eizellen, von Drillings- und Vierlingseiern erwartet werden. In der Tat wurden mehrmals reife Eier mit Einschnürungen, die durch eine Plasmaverdichtung ähnlich einer Naht in zwei Hälften gesondert waren, gefunden. Leider sind die Eikerne auf diesem Stadium aufgelöst und die

Chromosomen konnten nicht gefunden werden, so dass nicht nachgewiesen werden kann, ob es sich dabei wirklich um Zwillingseier handelt.

Die Follikelepithelien sind meist gut ausgebildet. Wo höher entwickelte Keimzellen vorhanden sind, entspricht die Epitheldicke durchschnittlich dem Entwicklungsstand der ältesten Keimzellgruppe des Follikels. Es kommen häufig aber auch beträchtliche Abweichungen vor. Besonders in Follikeln mit jungen Keimzellgruppen sind die Epithelien meist ganz bedeutend weiter entwickelt, und die Dimensionen des ganzen Follikels sind viel grösser, als dem Stand der eingeschlossenen Keimzellen entspricht.

Obwohl also die Keimzellen in diesem Alter durch die Bestrahlung nicht mehr entfernt werden konnten, ist doch eindrücklich zu sehen, dass die Follikelbildung eigene Wege gegangen ist. Die Keimzellen sind zum grossen Teil in ihrer Entwicklung durch die Follikelepithelbildung „überraunt“ worden, wobei sie wahllos in die sich bildenden Follikel eingeschlossen wurden. An Stelle normaler Follikel sind dadurch in der Mehrheit Sammelfollikel entstanden. Diese Fehlentwicklung deckt noch eindeutiger den mosaikartigen Charakter auch der spätern Phasen der Follikelentwicklung auf, als es der Nachweis des Korrelationszerfalles zwischen Follikelepitheldicke und Eikerngrösse vermochte (s. S. 136 ff).

Besonders interessant ist die Ausbildung einer randständigen Ovariole (Abb. 21) in einem stark reduzierten Ovar, von dessen rund 30 Follikeln nicht ein einziger normal gebildet ist (vergl. auch BUCHER, 1951). Die abgebildete Ovariole ist in drei Follikel gegliedert, an die ein kurzes Germarium anschliesst. Alle drei Follikel enthalten eine grosse Zahl kleiner Eizellen mit Kernen der Grössenklassen I—IV (s. S. 106). Im abgebildeten Schnitt des Basalfollikels liegen z.B. 6 Kerne der Grössenklasse IV (Oogoniengrösse; oben Mitte), 2 Kerne der Klasse III, 5 Kerne der Klasse II und 8 Kerne der Klasse I (links unten, unmittelbar neben dem Winkel des unteren bezeichneten Chorionbogens sind zwei davon in der Photo sichtbar). Der ganze Follikel enthält vermutlich zwei Sechzehnergruppen dieser kleinsten Grössenklasse, d.h. zwei Gruppen frisch entstandener Oocyten I. Dazu kommen zwei Kerne, die etwas grösser als Oogonienkerne sind. Distinkte Eizellen fehlen in allen

drei Follikeln; der erste und zweite Follikel enthalten jedoch am Grunde je eine Zelle, die Eizellen sein könnten. Sie unterscheiden sich aber nicht genügend von den andern Oocyten, als dass sie sich sicher identifizieren liessen. Weiter enthalten in andern Schnitten: der erste Basalfollikel apical eine grosse einzelne Metaphasenplatte, der zweite Follikel im Zentrum eine grosse einzelne Anaphase und der dritte Follikel einen grossen einzelnen Diaster. Somit um-

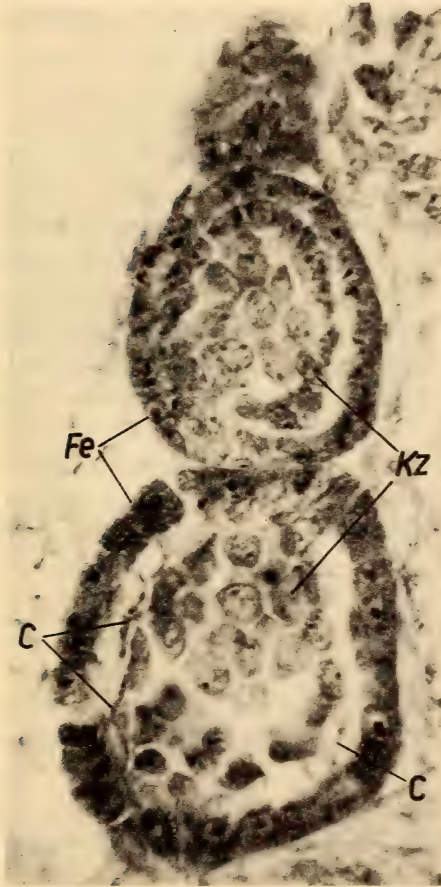


Abb. 21.

Sammelfollikel mit jungen Keimzellen und Chorionsekretion aus einem adulten 24 Std.n.P. - Röntgenovar. C Chorion; Fe Follikelepithel; Kz Keimzellen. Längsschnitt. Mikrophoto, Vergr. ca. 835 \times .

schliessen die drei Follikel, sicher feststellbar, als jüngste Keimzellen Oogonien, die in erster oocytogenetischer, oder sogar noch oogonialer Teilung begriffen sind; als älteste Keimzellen dagegen Oocyten I unmittelbar nach ihrer Entstehung. Dazu kann angenommen werden, dass unter den Keimzellen mit Kernen der Grössenklassen II—IV und grösser, sich sowohl Oogonien und Umwandlungszellen als auch heranwachsende Oocyten I befinden, wobei letztere sehr wahrscheinlich das Stadium unmittelbar vor dem Sichtbarwerden der Eizellen erreicht haben. Das heisst, dass die ältesten Keimzellen sich noch nicht, oder nur ganz knapp bis zum Stadium entwickelt haben, das sie normalerweise zu Beginn der Follikelbildung zeigen sollten (s. S. 109). Umso auffallender ist deshalb die Ausbildung des Follikelepithels, vor allem in den zwei untersten Follikeln. Im Basalfollikel hat das Epithel über seinen ganzen Umfang hin eine relative Dicke von 20 Masseinheiten ($1\text{ E} = 23\text{ }\mu$, s. Abb. 5, S. 111) erreicht, im zweiten Follikel eine solche von 12—15 Masseinheiten. Der Dicke von 20 entspricht das Follikelstadium IV (s. Abb. 5). Apical ist in einem solchen Follikel dabei das Epithel bereits wieder in fortgeschrittener Reduktion. Das Epithel des zweiten Follikels ist noch nicht ganz bis zur Dicke des IV. Stadiums herangewachsen. Mit seiner Dicke von 15 nimmt es eine mittlere Stufe zwischen Stadium III (Dotterhöhe 0, maximale Epitheldicke 11) und Stadium IV ($\frac{1}{4}$ Dotterhöhe, minimale Epitheldicke 18) ein. Im dritten Follikel beträgt die Epitheldicke immer noch 6—8, entspricht also dem Stadium II (Rosettenfollikel, Epitheldicke 7—9).

Von besonderer Wichtigkeit ist nun die Tatsache, dass das Epithel des Basalfollikels nicht nur übermässig dick geworden ist, sondern dass offensichtlich die Epithelzellen auch den physiologischen Zustand erreicht haben, der dieser Dicke entspricht. Über den ganzen Umfang des Follikelepithels ist nämlich zwischen diesem und den Keimzellen, teils den Keimzellen angeschmiegt, teils in Bögen vor den Epithelzellen liegend und sich wie ein Abguss von ihnen lösend, eine homogene Masse zu erkennen, die sich mit Chromotrop anfärbt (Abb. 21, C). Diese Masse kann ihrer Lage, Ausbildung und Färbbarkeit nach nichts anderes

als sezerniertes Chorionmaterial sein. Obwohl also (s. S. 156) die ältesten der eingeschlossenen Keimzellen im besten Fall den Entwicklungsgrad aufweisen, den sie normalerweise schon $2\frac{1}{2}$ Tg.n.P., d.h. zu Beginn der Follikelabtrennung, zeigen sollten, haben sich die Epithelialzellen bis zum Stadium der Chorionsekretion, welche basal erstmals während des ersten Imaginaltages erfolgt, weiter differenziert. Sie haben damit ihr höchstes Entwicklungsstadium erreichen können, denn auf die Chorionsekretion erfolgt im Normalfall die Regression des Follikelepithels. Es ist zwar nicht eine geschlossene Chorionkapsel entstanden, sondern es sind mehrere, unzusammenhängende Platten gebildet worden. Das ist beim Fehlen einer glatten Anlagerungsfläche jedoch nicht erstaunlich. Zum Teil mag die Auflösung der Lamelle auch ein Artefakt sein. Die Ablösung von den Epithelzellen spricht für gewaltsame Vorgänge infolge starker Schrumpfung. Der Schrumpfungsraum ist in Follikeln mit zu jungen Keimzellen stets grösser als in Follikeln mit korrelierter Entwicklung. Von der typischen mehrschichtigen Chorionstruktur ist noch nichts zu erkennen, doch tritt diese auch normalerweise erst in älteren Follikeln mit noch dickerem Epithel auf. Im gleichen Ovar, wie auch in seinem Schwesterovar sind noch weitere Follikel zu finden, die unter ähnlichen Bedingungen Chorion sezerniert haben. Auch an vielen andern Stellen ist Chorionbildung wahrscheinlich, nur konnte sie nirgends mehr mit der gleichen Klarheit beobachtet werden.

Das vollständige Verschwinden der ungeteilten Ovariolen bei den adulten 24 h.n.P.-Röntgenovarien lässt im Verein mit der selbständigen Entwicklung der Follikelepithelien schliessen, dass zwischen 8 und 24 h.n.P. die Induktion der Follikelbildung erfolgt. Wenn die Induktion erst durch Keimzellstadien möglich wäre, die einem höhern Alter als 24 h.n.P. entsprechen, müssten noch ungeteilte Ovariolen oder doch wenigstens ungeteilte Abschnitte an Ovariolen zu finden sein, da ja eine grosse Anzahl von Keimzellen sich nicht über das Bestrahlungsstadium hinaus entwickeln konnten. Ebenso wäre dann unverstänlich, dass gerade in den Follikeln mit klein gebliebenen Keimzellen, d.h. bei starker Schädigung der Keimzellen, das Missverhältnis zwischen Follikelepithelentwicklung und Keimzellentwicklung am grössten ist. Es müssten in den stark reduzierten Ovarien die „normaleren“ Follikel gefunden werden. Gerade das

ist aber nicht der Fall, wie das Beispiel des Ovarpaares zeigt, aus dem die Ovariolen von Abb. 21 stammt. Der Beginn der Induktionsphase muss also in die Zeit zwischen 8 und 24 h.n.P. fallen. Dagegen ist es aus diesen Befunden nicht möglich, auch ihr Ende zu bestimmen. Da die Keimzellen nicht zerstört, sondern nur in der Entwicklung gehemmt wurden, kann nicht entschieden werden, ob es sich um einen befristeten Vorgang handelt, oder ob eine dauernde Beeinflussung der Epithelialzellen durch die Keimzellen erfolgen muss. Dieser Einfluss müsste dann allerdings auch von ganz jungen Keimzellen in genügender Weise ausgeübt werden können (s. Abb. 21).

Zwischen 7 und 24 h.n.P. verlaufen im Ovar die Umwandlungsteilungen der Oogonien zu Oocyten I (s. Tab. 1a). Sofern man nicht einfach annehmen will, dass die Keimzellen das somatische Gewebe ständig induktiv beeinflussen und die Induktionsphase allein durch die Kompetenzphase der Epithelialzellen begrenzt wird (wie sich später zeigen wird, spielt die Kompetenzfrage höchstens eine untergeordnete Rolle, s. S. 182), ist damit die Frage gestellt, welche der Entwicklungsstadien der Keimzellen induzierend wirken; sind es die reifen Oogonien, die Umwandlungszellen oder erst die Oocyten I? Die beiden nachfolgenden Untersuchungen an Stadien zwischen 8 und 24 h.n.P. sollen darüber Aufschluss geben, wobei vor allem zwei Fragen im Vordergrund stehen werden:

1. Wie lange sind ungeteilte agametische Ovariolen zu finden?
2. Von wann an treten Sammelfollikel auf?

Für diese Zwischenuntersuchung wurden gewählt:

d) *Bestrahlungen im Alter von 12 und 17½ h.n.P.*

Mit 12 h.n.P. sind die Keimzellen der Ovariolenbasen in voller Umwandlung zu Oocyten I begriffen. Wie Tab. 1a, S. 103 zeigt, werden mit 12 h.n.P. basal im Ovar Zweier- und Vierer-Mitosegruppen gefunden. Dabei ist für die Zweier-Mitosegruppen die Periode grösster Häufung schon überschritten, während für die Vierer-Mitosegruppen das Ende der ausgeprägtesten Häufungsperiode erreicht ist. Basale Achter-Mitosegruppen treten ab 9 h.n.P. auf. Ihre Häufung erfolgt jedoch erst zwischen 13 und 17 h.n.P. Es sind basal also hauptsächlich Umwandlungszellen der Grössenklasse II zu finden (s. S. 106 ff). In geringerem Masse enthalten die Ovariolenbasen auch schon Oocyten I (vergl. auch Tab. 1b).

Bei 17 h.n.P. Ovarien sehen wir basal und median viele Achter- u. Vierer-Mitosegruppen (Tab. 1a). Für beide fällt die Häufigkeit danach basal rasch ab, während Zweier-Mitosegruppen schon seit längerer Zeit nur noch spärlich vertreten sind und bald ganz verschwinden. Um diese Zeit müssen basal also vorwiegend Oocyten I vorhanden sein, Umwandlungszellen dagegen sind schon selten (Tab. 1b). Auch median sind neben Umwandlungszellen schon viele Oocyten I zu finden.

Durch die Bestrahlungen im Alter von 12 und 17½ h.n.P. entstanden wieder partiell agametische Ovarien. Dadurch fallen die Schwierigkeiten weg, die sich bei den adulten 24 h.n.P.-Röntgenovarien für die Interpretation der Resultate ergaben, weil die Keimzellen nicht entfernt werden konnten.

Bei den 12 h.n.P.-Ovarien enthalten von den 15 stark reduzierten Gonaden (s. Tab. 3) deren 14 mehrere bis viele ungeteilte agametische Ovariolen, wie sie zuletzt noch bei den 7—8 h.n.P.-Röntgenovarien gefunden wurden. Zum Teil weisen diese agametischen Ovariolen gegenüber den früher erhaltenen (Abb. 12, 13) jedoch wichtige Abweichungen auf. Einige sind beträchtlich grösser als alle bisher entstandenen (Abb. 22a, 23a, b). Die in Abb. 22a dargestellt Ovariole ist z.B. etwa doppelt so lang als die grossen agametischen Ovariolen von Abb. 12 (der Umriss der rechts liegenden Ovariole von Abb. 12 ist zum Vergleich in der selben Vergrösserung in Abb. 22 (c) eingezeichnet). Nach der Ausbildung des Basisstieles (B) und des Endfilamentes (T) zu schliessen, hat sie dabei noch nicht ganz den Entwicklungsgrad jener Ovariolen erreicht (s. S. 125 sowie Abb. 2, 14). Grösse und Aussehen der ungeteilten agametischen Ovariolen entsprachen bis dahin den ungeteilten Ovariolen aus primär agametischen Ovarien (s. S. 127). Der Grössenunterschied kann also nicht auf stärkerer oder schwächerer Schädigung des somatischen Gewebes beruhen. Manche Ovariolen sind auch stark keulig verbreitert (Abb. 23b). Statt der enggedrängten und im Bereich der Germarien (G) spindelförmigen Zellen (Abb. 12) haben sie lockerstehende, sternförmige Zellen mit elliptischen bis kugeligen Kernen. Auch die grosse Ovariole von Abb. 22a ist so gebildet. Die keulenförmige Ovariole der Abb. 23b ist dabei jünger als die schmalen Ovariolen von Abb. 12 und nur wenig älter als die schmale Ovariole von Abb. 23a aus der gleichen Experimentenreihe, wie der Vergleich der Endfilamente (T) und der Basisstiele (B) zeigt.

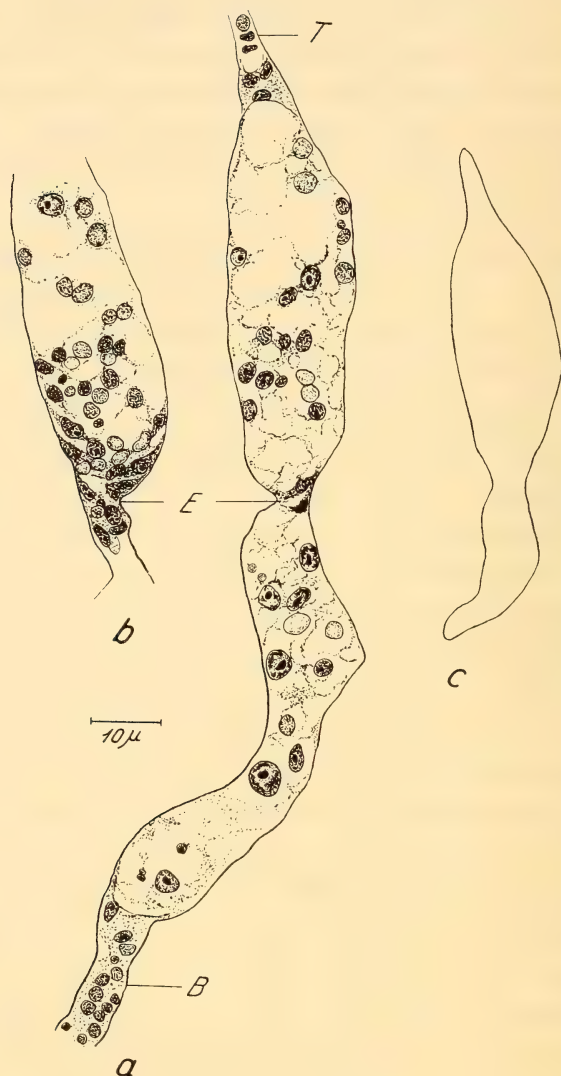


ABB. 22.

Agametische Ovariole aus einem adulten 12 Std.n.P.-Röntgenovar. a: Längsschnitt der Ovariole. b: Nachbarschnitt, die Wand der Ovariole bei der Einschnürung zeigend. c: Umriss der aussen rechts liegenden agametischen Ovariole von Abb. 12 in der selben Vergrößerung wie a und b. B Basalstiel; E Einschnürung; T Terminalfilament.

Im Zentrum der keulig erweiterten Ovariolen liegen oft pyknotische Reste von Keimzellen. Bei einigen ist zudem der Beginn einer Einschnürung zu beobachten. Meist ist es der Ansatz zur Bildung des ersten Basalfollikels. Die Einschnürung kann aber auch apicaler liegen, wie dies bei der Ovariole von Abb. 22a (E) zu sehen ist.

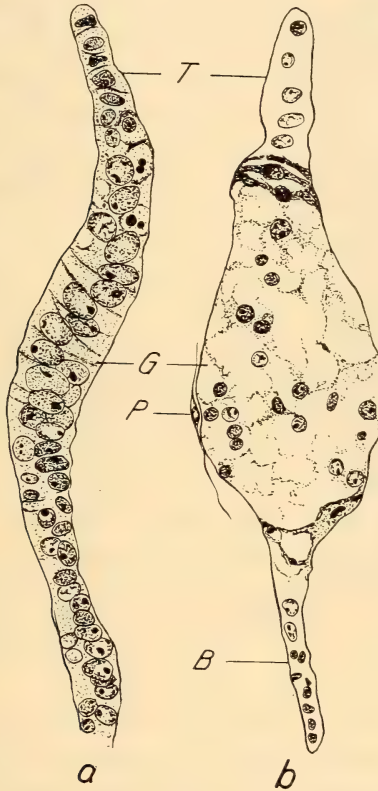


ABB. 23.

Agametische Ovariolen aus adulten 12 Std.n.P.-Röntgenovarien. a: schmale Ovariole. b: keulenförmige Ovariole. B Basalstiel; G Germarium; P Peritonealhülle; T Terminalfilament. Längsschnitte. Vergr. wie Abb. 22.

Im Bereich der Einschnürung scharen sich enggedrängt spindelförmige Epithelialzellen (Abb. 22b). Nach ihrer Anordnung können sie sowohl in diese Gegend eingewandert sein, wie auch an dieser Stelle der Auflockerung widerstanden haben. Die Lage der Einschnürung selber muss im Zusammenhang mit der Lage derjenigen

Keimzellen stehen, die nach der Bestrahlung den nötigen Reifegrad zur Follikelinduktion erreichen konnten.

Den wichtigsten Befund bei den adulten 12 h.n.P.-Röntgenovarien aber lieferten drei agametische Ovariolen aus zwei verschiedenen Gonaden. Diese agametischen Ovariolen sind in Follikel

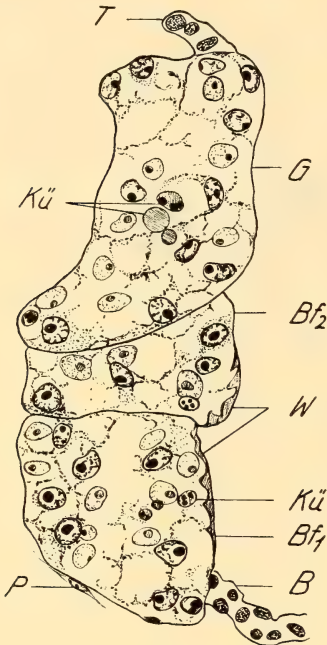


ABB. 24.



ABB. 25.

ABB. 24. — Follikelbildung bei einer agametischen Ovariole aus einem adulten 12 Std.n.P.-Röntgenovar. B Basalstiel; Bf₁₋₂ 1. und 2. Basalfollikel; G Germarium; Kü Keimzellüberreste; P Peritonealhülle; T Terminalfilament; W Wandverdünnung. Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 22.

ABB. 25. — Germariumähnlicher agametischer Follikel aus einem adulten 17 1/2 Std.n.P.-Röntgenovar. Epk Epithelialzellkerne. Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 22.

unterteilt! An die Stelle der agametischen Ovariolenschläuche sind agametische Follikel getreten. Bei der in Abb. 24 dargestellten Ovariole sind der 1. und 2. Basalfollikel (Bf₁, Bf₂) vom Germarium (G) abgetrennt. Die Bezeichnung Follikel gilt hier allerdings nur noch bedingt, da die Epithelialzellen keinen eigentlichen Hohlraum umschliessen, sondern als grosse, stark vakuolierte Zellen eine mehr oder weniger volle (durch die reifenden Nachbarfollikel verformte) Kugel bilden. Abgesehen davon, dass die Kerne hauptsächlich randständig liegen, sind keine Anzeichen einer Epithelbildung vorhanden. Die Abtrennung der Follikel ist als isolierter Vorgang erfolgt. Erwähnenswert ist die Umhüllung der tauben Follikel. Sie wird von einer sich

stark mit Chromotrop anfärbenden Substanz gebildet und weist lichtbrechende Verdickungen auf (Abb. 24, W). Dadurch wird der Follikel von einer Art Kapsel umschlossen, die in ihrer Färbbarkeit an Chorion erinnert. Da in den Follikelzellen aber keinerlei Anzeichen einer sekretorischen Tätigkeit zu finden sind, muss es sich um eine andere Bildung handeln.

Adulte $17\frac{1}{2}$ h.n.P.-Röntgenovarien.

Nur noch 5 der 19 stark reduzierten Ovarien weisen ungeteilte Ovarienschläuche auf. Die meisten davon sind keulig verbreitert und zeigen basale Einschnürungen. Sonst sind basal und median, soweit agametische Ovarien vorliegen, taube Follikel verschiedener Ausbildung zu finden. Viele sind vom Aussehen der tauben Follikel von Abb. 24. Sie haben eine dicke, sich stark rot anfärbende Wand und die Kerne ihrer Epithelialzellen sind gross und haben einen deutlichen Nucleolus und chromatische Strukturen wie die Kerne in normalen Follikel e p i t h e l i e n . Diese tauben Follikel haben z.T. einen beträchtlichen Umfang und einige sind echte Follikel, d.h. die Epithelialzellen umschliessen ein deutliches Lumen, ohne aber ein kubisches Epithel zu bilden.

Neben den grosskernigen tauben Follikeln kommen aber auch kleinkernige Follikel vor, die wie abgekugelte Germarien aussehen (Abb. 25). Eine zarte Haut mit sehr spärlichen Kernen umschliesst Gruppen von Epithelialzellen. Die Kerne dieser Epithelialzellen färben sich mehr oder weniger homogen dunkel an. Die Ähnlichkeit zwischen dem Follikel von Abb. 25 und der keulig verbreiterten Ovariole von Abb. 23b ist augenfällig. Diese germarienähnlichen Follikel lassen sich mit keinem Normalstadium vergleichen. Es kommt niemals vor, dass ein Normalfollikel rundum dünnhäutig begrenzt ist und Epithelialzellen im Innern enthält. Noch bevor ein Follikel sich vom Germarium abkugelt, hat basal die Bildung des kubischen Epithels eingesetzt, und nur die Trennungswand gegen das Germarium erscheint im Anfangsstadium als dünne Membran. Dadurch erhalten die entstehenden Follikel ihre charakteristische, becherförmige Gestalt (s. Abb. 2e, f). Bei den germarienähnlichen Follikeln aber ist die vollständige Abkuglung ohne jeden Ansatz zur Follikelepithelbildung erfolgt. Von dieser abnormen Differenzierung bestehen sowohl zu den grosskernigen tauben Follikeln der Abb. 24 wie auch zu den Normalfollikeln Übergangsformen. Es wurden verschiedene

germarienähnliche Follikel gefunden, deren Kerne eine mittlere Grösse zwischen denen von Abb. 24 und Abb. 25 aufweisen. Auch ihre Struktur entspricht einem Zwischenstadium. Die grosskernigen tauben Follikel sind also ein fortgeschrittenes Stadium der germarienähnlichen Follikel. Obwohl gar keine Epithelbildung erfolgte, gleichen ihre Kerne denen höher entwickelten Follikelepithels, während die Kerne der germarienähnlichen Follikel denen unentwickelter Epithelialzellen von ungeteilten agametischen Ovariolen gleichen (Abb. 12, basaler Abschnitt). Wenn die germarienähnlichen Follikel noch Keimzellen enthalten, so haben sich je nach Alter und Zustand dieser Keimzellen mehr oder weniger Epithelialzellen zu einem Ansatz von kubischem Epithel zusammengefunden. Daraus ist zu sehen, dass die Zellen der germarienähnlichen Follikel noch weiter entwicklungsfähig sind. Also ist die Bildung der Follikelepithelien nicht etwa deshalb ausgefallen, weil die Epithelialzellen durch die Bestrahlung blockiert wurden, sondern weil ihnen der nötige Anstoss dazu gefehlt hat.

Sammelfollikel kommen sowohl bei den 12 wie bei den $17\frac{1}{2}$ h.n.P.-Ovarien nur vereinzelt und meist nicht basal vor.

e) Zusammenfassung und Ergebnis.

1. Die ungeteilten agametischen Ovariolen kommen vor, solange im Moment der Bestrahlung höchstens Oogonien und Umwandlungszellen vorhanden sind (-8 h.n.P.-Röntgenovarien).

2. Veränderungen an den ungeteilten agametischen Ovariolen treten auf, sobald vor der Behandlung auch Oocyten I mit den Epithelialzellen in Kontakt gekommen sind. Die Veränderungen betreffen die Grösse und die Form der agametischen Ovariolen und das Aussehen der Epithelialzellen. Zugleich entstehen vereinzelt agametische Follikel. (12 h.n.P.-Röntgenovarien).

3. Die generelle Follikelbildung (aber noch ohne Entwicklung von Follikelepithel) und damit das Verschwinden der ungeteilten agametischen Ovariolen fallen zusammen mit dem Verschwinden der Umwandlungszellen (basal) aus den zur Bestrahlung kommenden Ovarien ($17\frac{1}{2}$ h.n.P.-Röntgenovarien).

4. Die allgemeine, unabhängige Entwicklung der Follikelepithelien (Bildung von Sammelfollikeln) erfolgt erst, wenn

Keimzellen länger als bis $17\frac{1}{2}$ h.n.P. auf die Epithelialzellen einwirken konnten (24 h.n.P.-Röntgenovarien).

5. Die einmal angeregt Entwicklung des Follikelepithels kann das Stadium der Chorionsekretion erreichen, auch wenn sich die eingeschlossenen Keimzellen bestenfalls bis zum Stadium unmittelbar vor der Follikelabtrennung entwickeln.

Aus diesen Ergebnissen lassen sich die folgenden Schlüsse ziehen:

1. Eine induzierende Wirkung der Keimzellen auf die Epithelialzellen erfolgt erst, wenn das Stadium der Oocyten I erreicht ist.

2. Die Induktion der Follikelbildung erfolgt in drei getrennten Schritten:

a) Wachstumsimpuls. Dieser dürfte von den Keimzellen sofort nach ihrer Umwandlung zur Oocyte I ausgehen, d.h. basal ab 9 h.n.P., da die Vergrößerung der Ovariolen fast gleichzeitig mit dem Erscheinen der Oocyten I auftritt.

b) Induktion der Follikelabschnürung. Sie führt in unserem Experiment zu den tauben Follikeln der adulten $17\frac{1}{2}$ (und 12) h.n.P.-Röntgenovarien und erfolgt basal zwischen ca 12 und $17\frac{1}{2}$ h.n.P.

c) Induktion der Follikelepithelbildung. Sie erfolgt einige Zeit nach der Induktion der Follikelabschnürung. Nur so ist verständlich, dass die germarienähnlichen Follikel massenweise gefunden wurden. Basal setzt sie zwischen $17\frac{1}{2}$ und 24 h.n.P. ein. Offen bleiben muss die Frage, ob auch dieser letzte Schritt ein kurzfristeter Induktionsvorgang ist, oder ob die Entwicklung des Follikelepithels nur unter einer dauernden Beeinflussung erfolgt. In letzterem Falle wären die Keimzellen schon vor dem zur Zeit der Epithelbildung erreichten Stadium fähig, diesen Einfluss hinreichend auszuüben (s. S. 156, 158).

Dass Follikelabtrennung und Follikelepithelbildung nicht nur durch zwei getrennte Induktionsvorgänge ausgelöst werden, sondern überhaupt voneinander unabhängige Geschehnisse sind, zeigte sich in einem larval bestrahlten Ovarium, und zwar an einer ungeteilten Ovariole mit Endfilament, grossem Germarium und einem

basalen Schlauchstück, das aus vielen dicht gepackten kleinen Zellen besteht. Der Basisstiel fehlt. Das Germarium ist gegen das fast lumenlose Basisstück, in dem keine Keimzellen liegen, deutlich abgesetzt. Es enthält viele, aber lauter kleine Keimzellen bis zu Oogoniengrösse (Abb. 26, Kz). Distinkte Eizellen konnten keine gefunden werden. Auffallend ist nun die Ausbildung der Epithelialzellen. An der Ovariolenbasis verhielten sie sich genau so wie in

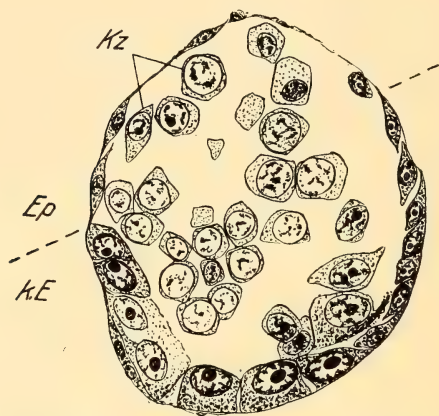


Abb. 26.

Germarium mit teilweiser Bildung von kubischem „Follikel“-Epithel aus einem larval bestrahlten Ovar. Schief querschnitt. Oberhalb der gestrichelten Linie wird die Germariumwand von unentwickelten Epithelialzellen (Ep), unterhalb der gestrichelten Linie von kubischem Epithel (k.E) gebildet. Kz Keimzellen. Vergr. wie Abb. 22.

agametischen ungeteilten Ovariolen. Sie haben sich stark vermehrt, ohne aber weiter zu wachsen und ein Plattenepithel zu bilden. Anders im Keimzellen enthaltenden Germarium. Dieses wird von der Spitze an bis etwa über die halbe Länge in typischer Weise von einer sehr lockeren, spindelizelligen Epithelialhülle umschlossen (Abb. 26, Ep). Gegen den Grund des Germariums aber schliessen sich die Epithelialzellen zu einem immer dicker werdenden, kubischen Epithel (k.E) zusammen, wie es sonst nur um abgeschnürte Follikel zu finden ist. Die Höhe dieses Epithels beträgt in der Mitte des Germariums 12—15 Masseinheiten (s. Abb. 5) und steigt bis auf 20—24 (!) Masseinheiten am Grunde des Germariums. Hier ist, allerdings nur sehr undeutlich zu erkennen, etwas Chorion sezerniert

worden. Die spindelzellige Hülle geht ohne jede Einschnürung in das kubische Epithel über. Diese Übergangszone der schief querschnittenen Ovariole ist in Abb. 26 dargestellt. Die Follikelbildung ist vollständig unterblieben. Das heisst aber, dass die Follikelabschnürung keine notwendige Voraussetzung für die Entwicklung des Follikel-epithels bildet. Warum die Ovariole ungeteilt blieb, wissen wir nicht.

Gegen die Annahme einer induktiven Auslösung der Follikel-epithelbildung könnte eingewendet werden, dass das plötzliche Auftreten von Sammelfollikeln in den 24 h.n.P.-Röntgenovarien allein dadurch bedingt sein kann, dass hier im Gegensatz zu allen früheren Experimenten die Keimzellen erhalten blieben und durch ihre Gegenwart den formativen Einfluss ausüben konnten, der allein die Organisation des typischen Follikelepithels ermöglicht. Es würde sich also nicht um eine z.B. stoffliche Induktion handeln, sondern lediglich um räumliche Voraussetzungen, die bei der Entfernung der Keimzellen nicht mehr erfüllt sind. Diese räumlichen Bedingungen sind jedoch auch bei den nur partiell agametischen Ovarien, wo Keimzellen des verschiedensten Alters erhalten bleiben, durchaus vorhanden. Dennoch wurden dort höchst selten Sammelfollikel gefunden. Die Follikelbildung und die Follikelepithelentwicklung erfolgten stets im Zusammenhang mit einer einzelnen Sechzehnergruppe, wenn auch die Korrelation zwischen Keimzellentwicklung und Epithelentwicklung gelockert sein kann (S. 136). Warum aber können sich bei den 24 h.n.P.-Röntgenovarien die Epithelialzellen bis weit gegen apical völlig unabhängig von den einzelnen Keimzellgruppen und deren Entwicklungshöhe zum Follikelepithel organisieren, während dies vorher nur in Anlehnung an die Keimzellen möglich war? Offensichtlich nur, weil sie bis dahin einen Einfluss erfahren haben, der sie dazu befähigt, während dieser Einfluss bis $17\frac{1}{2}$ h.n.P. noch fehlt. Tritt die Schädigung der Keimzellen schon bei $17\frac{1}{2}$ h.n.P. oder früher ein, so sind die Epithelialzellen für ihre Weiterentwicklung auf diejenigen Keimzellen (Sechzehnergruppen) angewiesen, die sich über das Behandlungsstadium hinausentwickeln. Nur dort entsteht ein Follikel, wo eine Keimzellgruppe sich noch weit genug differenzieren kann. Erfolgt die Schädigung aber erst mit 24 h.n.P., so hat ein grosser Teil der Keimzellgruppen das induzierende Stadium schon erreicht

und seinen Einfluss auf die Epithelialzellen ausüben können, bevor der Eingriff geschieht. Damit sind die Epithelialzellen für ihre weitere Differenzierung und die Organisation des Follikelepithels von der Reaktion der Keimzellen auf die Behandlung unabhängig geworden, während sie vorher auf den Anstoss jeder einzelnen, sich weiter entwickelnden Keimzellgruppe angewiesen waren. Das Resultat dieser Unabhängigkeit sind die Sammelfollikel *.

Es ist trotzdem möglich und sogar wahrscheinlich, wie später zu besprechende Abnormitäten zeigen werden (Abb. 33), dass den Keimzellen dabei auch durch ihre räumliche Gegenwart eine gewisse formative Rolle zufällt. Aber diese kann nicht als einzige Ursache für die Bildung des Follikels und seines Epithels angesehen werden. Es muss eine Induktion vorangegangen sein, die im basalen Teil des Ovars zwischen 17½ und 24 h.n.P. erfolgt.

f) *Bestrahlung im Alter von 3 Tg.n.P.*

Bestrahlungen im Alter von 3 Tg.n.P. lieferten ein ganz unerwartetes Resultat. Es wurde nämlich mit diesem Stadium zufällig eine Periode besonderer Empfindlichkeit der Eizelle gegenüber Röntgenstrahlen erfasst, die zu ihrer selektiven Auflösung im basalen und medianen Teil der Ovarien führte. Dadurch wurde die Analyse weiterer Vorgänge der Follikelentwicklung möglich.

Im Alter von 3 Tg.n.P. sind basal zwei bis drei Follikel abgetrennt. Die zwei untersten sind fertig abgekugelt und von einem bereits kubischen Epithel umschlossen (Abb. 2 g). Die Keimzellen befinden sich in der Wachstumsphase. Der Eikern steht in der Ruhephase der RT I und in den Nährzellen folgen sich die endomitotischen Teilungen (s. S. 110).

Die mit 5000 und 5500 r bestrahlten Ovarien zeigen einen recht komplizierten und bisweilen verworrenen Bau. Kombiniert man die an den verschiedenen Ovarien erhobenen Befunde, so ergibt sich für Basis und Mittelteil der 3 Tg.n.P.-Röntgenovarien folgendes Durchschnittsbild ihres Zustandes:

* KING und Mitarb. (1956) haben unter einem grossen Material eine Ovariole mit spontan entstandenen Sammelfollikeln gefunden. Sie glauben, dass diese durch überzählige Teilungen der Oocyten I entstehen. Auf Grund der eben dargelegten Befunde kann ich mich dieser Interpretation nicht anschliessen. Die für die abnorme Ovariole angegebene Zahl von Keimzellen entspricht auch durchaus der durchschnittlichen normalen Oocytenproduktion einer Ovariole.



ABB. 27.

Ovarbasis eines adulten 3 Tg.n.P.-Röntgenovars. 1—4 Nahrungszellgruppen, 4 mit z.T. geschrumpften Nahrungszellkernen. C Calyx; g.Nk geschrumpfter Nahrungszellkern; P Peritonealhüllen. Längsschnitt.

In der Ovarbasis liegen z.T. frei, z.T. innerhalb von Peritonealhüllen Gruppen mittelgrosser bis grosser Nahrungszellen. Eizellen und Follikel fehlen (Abb. 27), obwohl basal im Moment der Bestrahlung Follikel mit deutlichem Epithel ausgebildet waren. Die meisten Nahrungszellen haben die Sekretionsphase erreicht. In ihren Kernen bildet das Chromatin ein körniges Netzwerk mit flächigen Netzpunkten, wie dies für sezernierende Nahrungszellen typisch ist. Dazu findet man häufig, dem Kern anliegend oder doch in seiner Nähe, grosse Vakuolen mit scholligen Sekreteinschlüssen (Abb. 28). Weil die Eizelle fehlt, welche die Sekrete aufnehmen sollte, stauen sie sich in den Nahrungszellen. Zum Teil sind die Nahrungszellkerne stark geschrumpft (Abb. 27, g.Nk). Dieses Artefakt ist möglicherweise

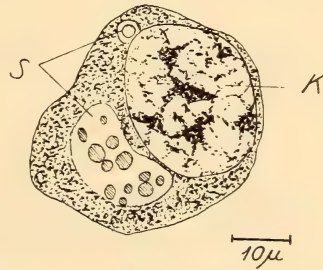


ABB. 28.

Nahrungszelle mit Sekretvakuolen aus einem geschädigten Ovar vom Typus der Abb. 27. K Kern; S Sekretvakuolen.

die Folge einer Quellung der Kerne, ein nach Röntgenbestrahlung bekanntes Phänomen.

Der Mittelteil der Ovarien zeigt einen weniger einheitlichen Aufbau. Es kommen hier die gleichen freien Nährzellgruppen wie in der Ovarbasis vor, nur sind die Zellen durchschnittlich etwas kleiner. Dank ihrer deutlicheren Einordnung in die Ovariolen ist hier klar zu erkennen, dass jede Nährzellgruppe für sich den Überrest eines Follikels darstellt. Eizelle und Epithel dieser Follikel aber sind verschwunden. An vielen Orten ist als letzter Rest der degenerierten Eizelle gerade noch der Pseudonucleolus des Eikernes erhalten geblieben. Ausser den bis auf die Nährzellen reduzierten Follikeln sind im Mittelteil aber auch alle Übergänge von der nackten Nährzellgruppe bis zum vollständigen Follikel mit Follikel-epithel, Eizelle und Nährzellen zu finden. Dabei muss auffallen, dass mit verschwindenden Ausnahmen überall dort, wo Follikel-epithelzellen vorkommen, gleichfalls eine Eizelle vorhanden ist; umgekehrt fehlt überall die Eizelle, wo auch kein Follikelepithel zu sehen ist. Tab. 4 zeigt, in welchen Kombinationen die drei

TABELLE 4.

nur Nz	Ez + Nz	Ez + Nz + Fe	Nz + Fe
sehr viele F. (± alle basalen, schätzungsweise 5—10 pro Ovar)	5 F. (alle Kerne geschrumpft Ez sehr klein)	32 F.	9 F. (entweder sehr junge F. oder Nz pyknotisch oder Fe redu- ziert)

Zusammenstellung der bei 10 adulten 3 Tg.n.P.-Röntgenovarien gefundenen Kombinationen der drei Zellarten des Follikels.

Ez Eizelle; F Follikel; Fe Follikelepithel; Nz Nährzellen.

verschiedenen Bestandteile eines Follikels bei 10 Ovarien gefunden wurden. Es geht daraus deutlich hervor, dass zwar die Nährzellen alleine auftreten können, dass aber als Alternative zu den solitären Nährzellgruppen nur vollständige Follikel möglich sind. Die Nachprüfung dieses Resultates bei den übrigen 3 Tg.n.P.-Röntgenovarien und bei den larval mechanisch behandelten bestätigte diesen Befund.

Die im Mittelteil noch erhaltenen Eizellen sind meist klein geblieben und entwickelten sich langsamer als die zugehörigen Nährzellen. Viele zeigen Degenerationserscheinungen. Ihre Lage im Follikel ist beliebig. Nun ist interessant, dass gleichgültig wo immer die Eizelle im Follikel liegt, basal, apical oder lateral, nur

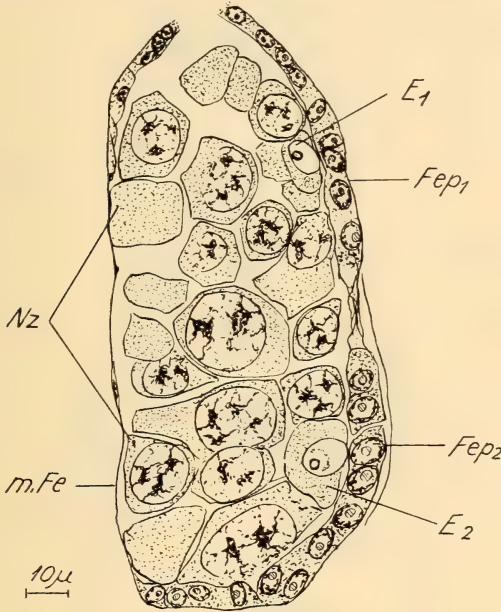


ABB. 29.

Sammelfollikel mit 2 lateralen Eizellen an Follikelepithelpolstern aus adultem 3 Tg.n.P.-Röntgenovar. $E_{1,2}$ Eizellen; $Fep_{1,2}$ Follikelepithelpolster; m.Fe membranöses Follikelepithel; Nz Nährzellen. Längsschnitt.

ihr anliegend ein kleines Stück kubischen Epithels ausgebildet ist, während sonst, soweit das Epithel Nährzellen umschliesst, nur eine dünne, flachkernige Membran vorhanden ist. Die Eizellen liegen somit auf einem kleinen Polster von Follikelepithelzellen, das am Rand kontinuierlich in die dünne Membran übergeht, wobei die der Eizelle zunächst liegenden Nährzellen meist noch auf das Polster zu liegen kommen. Handelt es sich wie in Abb. 29 um einen der hier häufigen Sammelfollikel, so entspricht die Anzahl der Epithelverdickungen stets der Zahl der eingeschlossenen Eizellen. Dies ist auch im grossen Sammelfollikel der Abb. 20 trotz des über-

wiegenden Einflusses der ältesten Keimzellgruppe auf die Epithelentwicklung noch zu erkennen.

Es bestehen also Beziehungen zwischen der Reduktion des Follikelepithels und dem Fehlen der Eizelle einerseits (s. die

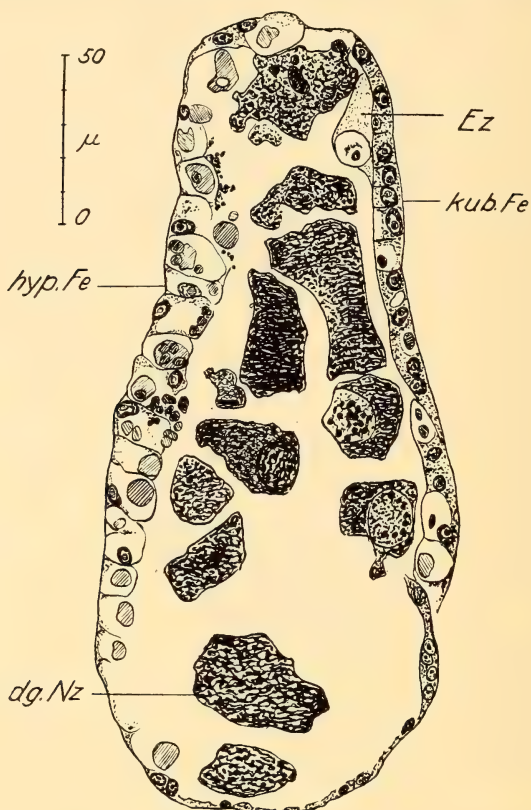


ABB. 30.

Follikel mit beginnender Hypertrophie des Follikelepithels und degenerierten Nährzellen. Die Eizelle ist in der Entwicklung zurückgeblieben, ihr anliegend ein kleines Stück normalen kubischen Follikelepithels. Ez Eizelle; dg. Nz degenerierte Nährzelle; hyp. Fe hypertrophisches Follikelepithel mit Sekretschollen (schraffiert); kub. Fe kubisches Follikelepithel; Längsschnitt.

nackten Nährzellgruppen der Ovarbasis) und zwischen Lage und Zahl der Eizellen und Lage und Zahl der kubischen Epithelabschnitte eines Follikels andererseits. Die zahlenmässige Übereinstimmung schliesst die Möglichkeit aus, dass der primäre Faktor

bei den eben beschriebenen Zusammenhängen eine Schädigung des Follikelepithels sein könnte. Sie kann es auch deshalb nicht sein, weil Röntgenbestrahlung niemals derart uniform wirkt, um die Auflösung aller Follikelepithelzellen in den Ovarbasen zu erklären. Es muss sich also hier um eine Begünstigung des Follikelepithels durch die Eizelle handeln. Es stellt sich nun die Frage, ob die Eizelle beim Erhaltenbleiben des kubischen Epithels eine aktive Rolle spielt, indem eine ständige Einwirkung von Seiten der Eizelle auf die Epithelialzellen Voraussetzung für die Entwicklung des Follikelepithels ist. Diese Möglichkeit besteht ja trotz der Ergebnisse der 24 h.n.P.-Bestrahlung immer noch. Die Entstehung von Sammelfollikeln zeigte uns nur die Unabhängigkeit der Follikel-epitheldifferenzierung vom Stadium der Keimzellen, nicht aber von den Keimzellen selbst (s. S. 157). Oder liegt die Bedeutung der Eizelle nur in einer lokalen Abschirmung des Follikelepithels vor einer eventuellen reduzierenden Wirkung der Nährzellen?

Es wurden bis dahin nur die Fälle mit Reduktion des Follikelepithels erwähnt. In vielen Follikeln wurde aber auch eine direkt gegenteilige Entwicklung des Epithels festgestellt. In Abb. 30 liegt zwar die laterale, in der Entwicklung zurückgebliebene Eizelle (Ez) ebenfalls an einem kleinen Stück kubischen Epithels (kub.Fe). Die anschliessenden Epithelzellen aber, welche die Nährzellen umgeben, sind nicht reduziert, sondern im Gegenteil hypertrophisch (hyp.Fe). Das Epithel wird hier von ausserordentlich hohen, fast vollständig vakuolisierten Zellen gebildet. Die normalerweise im äussern Drittel stehenden Kerne sind infolge der grossen Vakuolen gegen die Zellwand verlagert. Die Kerne sind gross und zeigen nicht die geringsten Spuren von Degeneration. Die Vakuolen sind mit grossen Sekretschollen und -kugeln (schraffiert) gefüllt, die z.T. aus der Zelle entlassen werden. Im Gegensatz zu diesen hypertrophierten, sezernierenden Epithelzellen sind sämtliche Nährzellen vollständig degeneriert und ihre Kerne pyknotisch verklumpt (dg. Nz). Die selbe Erscheinung ist in Abb. 31 zu finden. Um eine grosse, mit Dotterschollen gefüllte Eizelle ist hohes kubisches Epithel ausgebildet. Sobald das Follikel-epithel jedoch in den Bereich der Nährzellen kommt, wird es hypertrophisch. Wiederum sind alle Nährzellen degeneriert. In diesem Follikel hatte das Epithel mit grösster Wahrscheinlichkeit vor dem

Hypertrophieren schon eine gewisse Regression erfahren, denn die Nährzellen können erst in einem sehr späten Stadium degeneriert sein. Sie müssen vor der Entartung ihre sekretorische Tätigkeit schon ausgeübt haben, da die Eizelle bis knapp $\frac{1}{3}$ Dotterhöhe angewachsen und mit Dotterschollen gefüllt ist. Schon bei $\frac{1}{4}$ Dot-

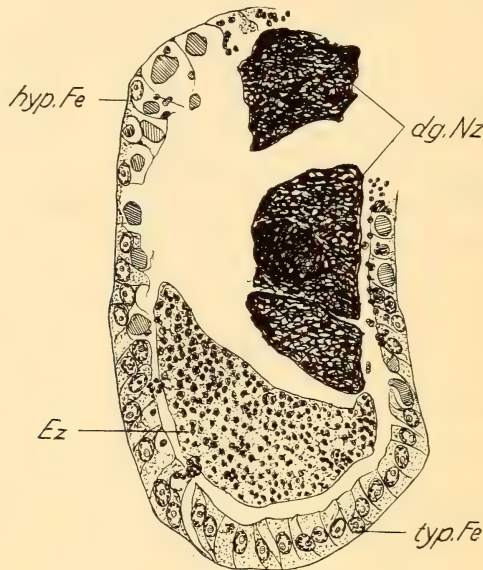


ABB. 31.

Follikel mit beginnender Hypertrophie des Follikelepithels und degenerierten Nährzellen. Eizelle von ca $\frac{1}{3}$ Dotterhöhe. Soweit die Eizelle reicht, normales, chorionsezernierendes Follikelepithel. Ez Eizelle mit Dotterschollen; dg.Nz degenerierte Nährzellen; hyp.Fe hypertrophisches Follikelepithel mit Sekretschollen (schraffiert); typ.Fe typisches Follikelepithel. Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 30.

terhöhe ist aber das Follikelepithel normalerweise um die Nährzellen merklich zurückgebildet (s. Abb. 5). In beiden Follikeln zeigen gelegentliche Sekretkugeln im normal gebliebenen Epithelstück, dass auch dort das Sekretionsstadium erreicht ist. In allen Follikeln mit hypertrophischem Epithel haben ausnahmslos alle Nährzellen pyknotische Kerne, ihr Plasma ist geschrumpft und wie die Kerne von enormer Färbbarkeit. Stets aber bleibt das der Eizelle anliegende Epithelstück normal, auch wenn die Eizelle nur klein ist; nur dass sich die Grösse des normalen Stückes nach der Grösse der Eizelle richtet.

Bei den zwei Follikeln von Abb. 30 und 31 wurde der Beginn einer Entwicklung erfasst, die zu einer vollständigen Veränderung der Follikel führt. Die Vergrößerung der Epithelzellen geht immer weiter, so dass sich das Follikellumen mehr und mehr verengt (Abb. 32). Die Riesenzellen (hyp.Fe) umschliessen die Reste der Keimzellen: zerfallene Nährzellen, Eiplasma mit Dotterschollen (E),

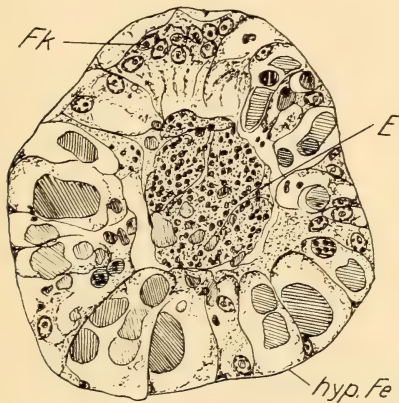


Abb. 32.

Follikel mit fortgeschrittener Hypertrophie des Follikel-epithels. E Eiplasma mit Dotterschollen; Fk Follikel-epithelkerne; hyp.Fe hypertrophisches Follikel-epithel mit grossen Sekretschollen und wandständigen Kernen. Sekretschollen schraffiert. Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 30.

etwas seltener aber auch jüngere Oocyten I des Stadiums mit „Pachytänchromosomen“ (s. S. 110). Schliesslich verschwindet der Epithelcharakter ganz (Abb. 33). Die grossen, vakuolisierten Zellen mit ihren Sekreteinschlüssen lösen sich aus dem Epithelverband und durchsetzen den ganzen Follikel als lockeres Gewebe. Zwischen den Epithelzellen eingeschlossen liegen die Überreste der Keimzellen (Kr).

Auch hier kann nicht die Veränderung des Follikel-epithels der primäre Vorgang sein, der die Degeneration der Nährzellen nach sich zieht, da sonst auch Fälle gefunden werden müssten, bei denen neben dem hypertrophischen Epithel die Degeneration der Nährzellen erst beginnt. Es ist aber vielmehr so, dass die Degeneration der Nährzellen schon sehr weit fortgeschritten ist, wenn die Hypertrophie des Follikel-epithels noch in den Anfängen steht (Abb. 30).

Bei fünf Follikeln wurde um Nährzellen mit stark pyknotischen Kernen sogar normales Follikelepithel mit der relativen Dicke von 7—10 Masseinheiten gefunden. Die Hypertrophie hat hier noch nicht begonnen; aber auch die Regression ist unterblieben.

Ausser den Beziehungen zwischen der Eizelle und dem Follikelepithel (s. S. 170) sind damit auch solche zwischen den



ABB. 33.

Follikel mit vollständiger hypertrophischer Entartung des Follikelepithels. Fez Follikelepithelzellen; Kr Keimzellreste. Sekretschollen schraffiert. Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 30.

Nährzellen und dem Epithel festgestellt worden: 1. Nährzellen umschliessendes Follikelepithel wird reduziert. 2. Sind aber die Nährzellen degeneriert, so hypertrophiert das umgebende Follikelepithel und seine Zellen füllen sich mit Sekreten. Daraus folgt mit grosser Wahrscheinlichkeit, dass den Nährzellen eine reduzierende Wirkung auf das Follikelepithel zuzuschreiben ist, während die Eizelle die ihr anliegenden Partien gegen diese Wirkung lediglich abschirmt.

Vor der weitem Interpretation dieser Befunde sollen die normalen Vorgänge bei der Follikelreifung nochmals in Erinnerung gerufen werden (s. Abb. 5). Bis und mit dem dritten Follikelstadium macht sich am Follikelepithel noch keine polare Differenzierung

bemerkbar. Sobald jedoch das beschleunigte Wachstum der Eizelle und die Dottersynthese beginnen, fängt das Epithel um die Nährzellen, von der Spitze des Follikels her gegen die Mitte zu fortschreitend, zu schwinden an. Schon bei $\frac{1}{2}$ Dotterhöhe (Stad. V, s. Abb. 5) ist das Epithel, soweit die Nährzellen reichen, zur dünnen Membran reduziert, während es im Bereich der Eizelle erst jetzt zur maximalen Dicke herangewachsen ist und Chorion sezerniert. Im Verlauf seiner Sekretionsphase verliert allmählich auch das Epithel um die Eizelle seine Höhe. Anfänglich mag hier einfach eine Dehnung durch die stark wachsende Eizelle vorliegen. Mitosen werden in diesem Stadium keine mehr gefunden. Später setzt deutlich eine Regression ein, die aber erst mit abgeschlossener Eibildung vollständig ist. Das beschleunigte Wachstum der Eizelle hängt mit der Tätigkeit der Nährzellen zusammen, die ihre Sekrete in die Eizelle ergießen und mehr oder weniger vollständig von ihr aufgenommen werden. Aber auch die Nährzellen wachsen bis zu und noch während ihrer Sekretionsphase ganz beträchtlich. Die Reduktion des anliegenden Follikelepithels beginnt ziemlich genau mit der Sekretionsphase der Nährzellen. Nach den Untersuchungen von RIES (1932) an *Mallophagen* und *Pediculiden* wird dort die Nährstoffversorgung der Eizelle hauptsächlich von den Follikelepithelzellen bestritten. Das kann bei *Drosophila* höchstens zu Beginn des Wachstums der Fall sein, da die Chorionsekretion und damit der Abschluss der Eizelle vom Epithel schon bei sehr niedriger Dotterhöhe einsetzt. Die Ernährung der Eizelle dürfte hier ausschliesslich durch die Nährzellen erfolgen. Dieser Ansicht ist auch Hsu (1952). Dagegen wäre es möglich, dass die Follikelepithelzellen ihrerseits zum Wachstum der Nährzellen beitragen. Die Substanz des reduzierten Epithels muss in irgend einer Form vom benachbarten Gewebe aufgenommen werden. Sie mag gelöst in die Körperflüssigkeit übertreten. Mindestens ebenso wahrscheinlich ist aber, dass die Nährzellen auf ihre Kosten wachsen. Dann wäre verständlich, wieso das Follikelepithel in Nachbarschaft der Nährzellen so rasch erschöpft ist und zur dünnen Membran reduziert wird.

Von diesen Gegebenheiten der Normalentwicklung ausgehend, ist die Deutung der Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Experimentalbefunden leichter. Die Regression des den Nährzellen anliegenden Follikelepithels entspricht dem natürlichen Schicksal dieses Epithelbereiches. Es muss deshalb nicht erstaunen, dass

in der Ovarbasis kein Follikelepithel mehr gefunden wurde. Da die Eizellen fehlen, umschliessen die Follikelepithelien nur Nährzellen und werden demzufolge als Ganzes reduziert. Sobald auch nur eine kleine Eizelle vorhanden ist, bewahrt diese das anliegende Stück Epithel vor der Regression, da der direkte Kontakt mit den Nährzellen hier gelöst ist. Sobald die Nährzellen aber funktionsuntüchtig werden, entwickelt sich der Epithelabschnitt, welcher sie umgibt, im gleichen Sinne weiter, wie derjenige um die Eizelle. Er wächst heran und seine Zellen beginnen zu sezernieren. Da die Sekrete aber keinen Abnehmer finden, stauen sie sich in den Zellen. Dadurch wird die sekretorische Tätigkeit gehemmt; die Zellen erschöpfen sich nicht in der Sekretion, wie dies schliesslich im Epithelabschnitt um die Eizelle der Fall ist, wo nach erfolgter Chorionsekretion das Epithel vollständig reduziert ist, sondern sie bleiben erhalten und hypertrophieren. Auf diese Weise entstehen die Follikel der Abb. 30 bis 33. Dass übrigens das Follikelepithel über seinen ganzen Umfang zur Sekretion kompetent ist, beweisen der Follikel von Abb. 24, bei dem rundherum Chorion abgeschieden worden ist und die Tatsache, dass sich die Polarität des Follikelepithels nach der beliebigen Lage der Eizelle richtet (Abb. 29). Auch inverse Eier sind von typischem Chorion umgeben und in Sammelfollikeln mit mehr als einer dotterhaltigen Eizelle wird an jede Chorion angelagert. — Follikel vom Typus der Abb. 33 sind eine in allen Experimenten sehr häufige Erscheinung, während die Übergangsstadien (Abb. 30—32) eher selten zu sehen sind. Daraus ist zu schliessen, dass diese Follikel lange und ohne Veränderung bestehen bleiben. Ohne die Gegenwart von Ei- und Nährzellen leben demnach die Follikelepithelzellen auf dem Stadium der Sekretion unverändert weiter. Nur wenn die Sekrete unter dem Einfluss der Eizelle abgegeben werden, bzw. wenn die Epithelzellen noch vor dem Sekretionsstadium von den Nährzellen aufgebraucht werden, verfallen sie der Regression.

Eine weitere Präzisierung der Beziehungen zwischen somatischem Gewebe und Keimzellen ergibt sich aus der Beobachtung einer Fehlentwicklung, die in Ovarspitzen einiger adulter 3 Tg.n.P.-Röntgenovarien festgestellt wurde. Es handelt sich um lange Ger-

marien, die mit ihren enggedrängten, grosskernigen Epithelialzellen (Abb. 34, Epz) das Aussehen jüngerer agametischer Ovariolen (Abb. 13, S. 124) haben. Die Vermehrung der Epithelialzellen, welche bei den agametischen Ovariolen als einzige Äusserung der sonst unterbleibenden Follikelbildung anzusehen ist (s. S. 126 ff),

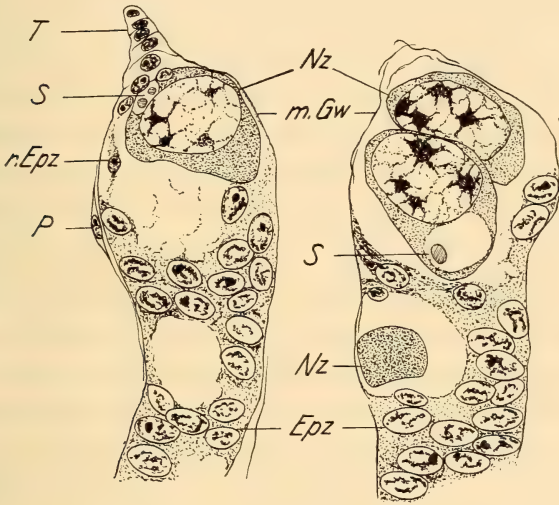


ABB. 34.

Ungeteiltes Ende einer Ovariole mit solitären Nährzellen aus einem adulten 3 Tg.n.P.-Röntgenovar. Zwei Nachbarschnitte. Epz Epithelialzellen; m.Gw membranöse Germariumwand; Nz Nährzellen; P Peritonealhülle; r.Epz reduzierte Epithelialzelle; S Sekretvakuole; T Terminalfilament. Längsschnitte. Vergr. wie Abb. 22.

hat noch nicht stattgefunden. Die Germarien sind jedoch nicht agametisch. Zwar fehlen alle jüngern Keimzellstadien, die in diesem Ovarbezirk erwartungsgemäss die normalen Nachbarovariolen füllen. Dagegen weisen sie eine wechselnde Zahl solitärer Nährzellen der Sekretionsphase auf. Im abgebildeten Germarium (Abb. 34) liegen z.B. drei grosse Nährzellen (Nz) unmittelbar unter dem Terminalfilament (T); in einer Lage, die normalerweise nie von Nährzellen eingenommen wird. Sie enthalten Vakuolen mit Sekretschollen (S). Die Wand der Germarien wird in Nachbarschaft der Nährzellen nicht von den grosskernigen Epithelialzellen (Epz), sondern nur von einer dünnen Membran (m.Gw) gebildet. Verein-

zellt liegen in der Übergangszone von den Epithelialzellen zur membranösen Wand Zellen mit Regressionerscheinungen (r.Epz). Neben ihrer sekretorischen Tätigkeit müssen die Nährzellen also auf die Epithelialzellen auch ihren reduzierenden Einfluss ausgeübt haben, der im Normalfall erst die Follikel Epithelzellen trifft (s. S. 176). Die Germarien enthalten somit funktionstüchtige Oocyten I in fortgeschrittenem Entwicklungsstadium. Dennoch sind keine Anzeichen einer Follikelbildung zu finden. Da es sich um die Enden der Ovariolen handelt, muss die Möglichkeit bedacht werden, dass die Epithelialzellen hier einfach die Kompetenz zur Follikelbildung noch nicht erreicht haben könnten. Das Fehlen der Zellvermehrung (s. oben) würde damit in Einklang stehen. Die Nachbarovariolen, welche die normale Folge von Keimzellstadien einschliessen, sind aber auf der gleichen Ovarhöhe in viele Follikel unterteilt und enden in einem nur sehr kurzen Germarium. Auch eine Blockierung der Epithelialzellen durch die Röntgenbestrahlung ist wenig wahrscheinlich. Auf eine derart grosse Zahl von Zellen könnte die Strahlenwirkung niemals so gleichförmig sein, dass nicht wenigstens ein Teil der Zellen sich weiter entwickeln würde. Zudem sind auch keine histologischen Anzeichen einer Schädigung zu sehen. Die abnorme Lage der Nährzellen unterhalb des Terminalfilamentes lässt vermuten, dass die Nährzellen erst im Lauf der Entwicklung auf irgend eine Weise in die Spitze der Ovariole gelangt sind. Geschah eventuell die Einwanderung erst in einem Zeitpunkt, da ihre Induktionsfähigkeit schon erloschen war? Diese Möglichkeit ist für das abgebildete Germarium nicht auszuschliessen, obwohl die vollständige Reduktion der benachbarten Epithelialzellen erkennen lässt, dass die Nährzellen schon längere Zeit diesen Platz einnehmen müssen. In andern Germarien aber sind die Nährzellen über die ganze Länge verteilt. Hier kann mindestens für diejenigen Nährzellen, die über dem letzten der abgeschnürten Follikel liegen, kaum angenommen werden, dass sie sich nicht mehr am Ort ihrer Entstehung befinden. Es müssten wenigstens in diesen Fällen Ansätze zur Follikelabschnürung vorhanden sein. Als einzige mögliche Ursache für den Ausfall der Follikelbildung kommt damit nur noch das Fehlen jeglicher Eizelle in Betracht. Dies bedeutet aber, dass von den Oocyten I nur die Eizelle allein die Fähigkeit der Follikelinduktion besitzt. Zwischen der Wirkung der Eizelle

und der Wirkung der Nährzellen auf die Epithelialzellen besteht somit ein klarer Antagonismus. Die Eizelle induziert die Weiterentwicklung der Epithelialzellen zum hochschichtigen, sezernierenden Follikel-epithel; die Nährzellen aber hemmen diese Entwicklung und bewirken die vollständige Regression der Epithelzellen.

Auch die Frage, ob die Entwicklung des Follikelepithels bis zur Sekretionsphase nur unter dem ständigen Einfluss der Eizelle möglich ist, kann jetzt beantwortet werden. Aus allen Befunden geht hervor, dass der Aktionsbereich der Keimzellen räumlich äusserst beschränkt ist. Er erstreckt sich nicht über das unmittelbar benachbarte Gewebe hinaus. Jede Keimzellgruppe induziert nur gerade ihren eigenen Follikel, so dass z.B. zwischen zwei Follikeln ein Stück ungeteilten Ovariolschlauches liegen kann. In den Follikeln mit kleingebliebener Eizelle neben grossen Nährzellen wird nur gerade jenes kurze Epithelstück von der vorzeitigen Regression bewahrt, das der Eizelle anliegt. Im normalen Follikel kann sich ebenfalls nur der Epithelteil entwickeln, welcher die Eizelle unmittelbar umgibt. Umgekehrt differenziert sich in den Follikeln mit degenerierten Nährzellen das Epithel über den ganzen Umfang zur Sekretionsphase weiter, selbst wenn nur eine ganz kleine Eizelle vorhanden ist (Abb. 30), die wiederum nur gerade das anliegende Epithelstück vom Hypertrophieren abhält. Dass die Möglichkeit hiezu auch in diesem Abschnitt bestehen würde, da auch hier sezerniert wird, zeigen die vereinzelter Sekretschollen in den Zellen dieses Stückes. Es ist nicht möglich, dass in solchen Follikeln die von der Eizelle z.T. sehr weit entfernten und durch die Nährzellen von ihr getrennten Epithelzellen nur dank einem Dauereinfluss der Eizelle die Sekretionsphase erreicht haben. Beim geringen Wirkungsbereich der Eizelle wüsste man nicht, wie ein solcher, über das Hindernis der dazwischenliegenden Nährzellen hinweg, die weit entfernten Epithelzellen hätte erreichen können. Auch die Induktion der Follikelepithelentwicklung kann deshalb nur ein befristeter Vorgang sein, der nach den S. 151 ff dargestellten Ergebnissen basal in der Zeit zwischen $17\frac{1}{2}$ und 24 h.n.P. erfolgt, d.h. mindestens 24 h vor dem Beginn jeder Follikelepithelentwicklung (s. Abb. 2).

Zum Abschluss muss man sich noch überlegen, ob die Induktionsphase der Follikelbildung allein durch die Tätigkeit der Keimzellen bestimmt wird, oder ob dieser Aktivitätsphase eine Kompetenzphase oder sensible Periode der Epithelialzellen gegenüber steht. Unsere Versuchsanordnung gestattet eine Entscheidung darüber nicht. Zur Lösung dieser Frage müsste man Transplantationsexperimente anstellen können, wie sie bei entwicklungsphysiologischen Untersuchungen an *Amphibien* verwirklicht wurden, d.h. man sollte bei *Drosophila* verschieden alterige Keimzellen mit verschieden alterigen Epithelialzellen kombinieren können. Es ist jedoch eine Aussage über den Beginn einer eventuellen sensiblen Periode möglich. Induzierend wirkt allein die Eizelle, und zwar mehr oder weniger unmittelbar von ihrer Entstehung an. Besteht eine sensible Phase der Epithelialzellen, so muss ihr Beginn spätestens mit dem Beginn der Aktivitätsphase der Keimzellen zusammenfallen. Basal muss sie demnach spätestens um die 9.h.n.P. begonnen haben.

E. SCHLUSSÜBERSICHT

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung lässt sich folgendes Bild der Beziehungen zwischen den Keimzellen und dem somatischen Ovargewebe ableiten:

In einer *ersten Entwicklungsphase*, welche die gesamte Embryonal- und Larvalzeit umfasst und innerhalb der Praepupalzeit bis zum Moment der Entstehung der Oocyten I, d.h. bis 9 Stunden nach der Pupariumbildung reicht, verläuft die Entwicklung von Keimzellen und somatischen Zellen des Ovars rein mosaikartig. In dieser ersten Phase differenzieren die Epithelialzellen autonom (in Bezug auf die Keimzellen) Ovariolen mit Basisstiel, Germarium und Terminalfilament. Die Keimzellen durchlaufen unterdessen mehrere, der einfachen Zellvermehrung dienende oogoniale Teilungen, sowie, an der Basis der Ovariolen, die ersten oocytogenetischen Umwandlungsteilungen, aus denen Sechzehnergruppen von Oocyten I hervorgehen. Das Erscheinen der Oocyten I 9 h.n.P. bedeutet das Ende der ersten, mosaikartigen Entwicklungsphase.

Kurz nach der Entstehung der Oocyten I beginnt als *zweiter Entwicklungsabschnitt* die Phase der Follikelinduktion

durch die Eizelle. Trotz des ontogenetisch späten Eintrittes dieser Induktion dürfte die Eizelle als Glied der Keimbahn dabei primärer Induktor sein. Auf das ganze Ovar bezogen dauert die Induktionsphase solange als Eizellen frisch entstehen. Das bedeutet von 9 h.n.P. bis zur Erschöpfung des Ovars am Ende der Legeperiode der Imago. Betrachtet man jedoch allein diejenigen somatischen Zellen, die gerade die dreifache Induktionswirkung der Eizelle: Wachstumsimpuls, Anstoss zur Follikelabtrennung, Anstoss zur Follikelepitheldifferenzierung (basal zwischen 9 und 12 h, bzw. zwischen 12 und 17½ h, bzw. zwischen 17½ und 24 h.n.P.) erfahren haben, kann eine weitere (dritte) Entwicklungsperiode unterschieden werden, die basal spätestens 24 h.n.P. beginnt.

Die drei Induktionsvorgänge befähigen die Epithelialzellen zur selbständigen Differenzierung bis zum hochschichtigen, das Chorion sezernierenden Follikelepithel. Der *dritte Entwicklungsabschnitt* ist dementsprechend erneut eine Periode der unabhängigen, mosaikartigen Entwicklung. Sie dauert basal von ca 24 h.n.P. an über die ganze restliche Puppenzeit hinweg bis zur Reife der ersten Eier während des 2. Imaginaltages. Für einen Teil der Follikelepithelzellen, nämlich für alle jene, welche den Nährzellen anliegen, wird sie jedoch gegen Ende durch eine letzte, *vierte Entwicklungsphase* überlagert, in welcher wiederum von Seiten der Keimzellen, und zwar diesmal von den Nährzellen, Einfluss auf die Entwicklung der somatischen Zellen genommen wird. Basal fällt diese abhängige Phase mit dem 1. Imaginaltag zusammen. Die Nährzellen wirken dabei als Antagonisten zur Eizelle, denn ihr Eingreifen bewirkt die vollständige Regression der Follikelepithelzellen bevor sie das Sekretionsstadium erreicht haben. Dieser Prozess ist dabei ganz anders geartet als die Auslösung der Follikelentwicklung durch die Eizelle. Der Effekt jener zeitlich kurz begrenzten Induktionsvorgänge setzt erst 24 und mehr Stunden später und unabhängig vom Zustand der Eizelle ein, während die Wirkung der Nährzellen an ihre ständige und unmittelbare Anwesenheit und Funktionsfähigkeit gebunden ist.

F. ERGEBNISSE

I. NORMALENTWICKLUNG.

1. Der zeitliche Ablauf der Differenzierung der Ovariolen im Ovar von *Drosophila mel.* Meig wird dargestellt (s. Abb. 2, S. 99).

2. Der zeitliche Ablauf der oocyto-genetischen Teilungen im basalen, mittelständigen und apicalen Bereich des Ovars wird anhand von Quetsch- und Schnittpräparaten untersucht (Tab. 1, S. 103). Die ersten Oocyten I. Ordnung entstehen 9 Std. nach der Pupariumbildung.

3. Die gemeinsame Dauer von Metaphase und Anaphase der oocyto-genetischen Teilungen beträgt etwa 4,5 bis 7,6 Minuten.

4. Zwischen den 4 oocyto-genetischen Teilungen erfolgt nahezu kein Wachstum der Keimzellen (Kernmessungen, s. S. 108).

5. Verschiedene, für die Untersuchung wichtige Stadien werden charakterisiert (Abb. 5, S. 111).

6. Auf Grund von Messungen wird eine numerische Korrelation zwischen Follikelepitieldicke und Eikerngrösse festgestellt. Jedem Follikelstadium kann eine bestimmte Grössenklasse des Eikerns und ein bestimmter Dickenbereich des Follikelepitheils zugeordnet werden.

II. VERSUCHSERGEBNISSE.

7. Gegenüber mechanischer Verletzung, UV- und Röntgenbestrahlung weisen die Keimzellen eine höhere Empfindlichkeit auf als der somatische Teil des Ovars.

8. Die Reaktion auf die unter 7. genannten Insulte kann über 4 Keimzellgenerationen verzögert erfolgen. Die Entstehung dieser Spätwirkung wird diskutiert (s. S. 139 ff).

9. Totale oder partielle Agametrie ohne nennenswerte Somaschädigung bei der nachfolgenden imaginalen Ausdifferenzierung wurde bei Ovarien verpuppungsreifer Larven durch mechanische Zerstörung, UV- und Röntgenbestrahlung erreicht; bei Ovarien im Alter von 7, 12, 17½, 24 und 72 Stunden nach der Pupariumbildung durch Röntgenbestrahlung.

10. Bei der Entfernung der Keimzellen unmittelbar vor oder 7—8 h.n.P. entstehen in den dadurch sekundär agametisch gewordenen Ovarien die gleichen ungeteilten Ovariolenschläuche wie in den primär agametischen Ovarien aus den Experimenten GEIGY's (1931). Sie werden — wenn fertig entwickelt — von zahlreichen enggedrängten, spindelförmigen (Germarium) und polyedrischen („Follikelzone“) Epithelialzellen gebildet.

11. Sowohl bei den primär wie bei den sekundär agametischen Ovariolen fallen einzig die Follikelabschnürung und die Umbildung der Epithelialzellen zum kubischen Follikelepithel weg. Die übrige imaginale Differenzierung der Ovariole ist nicht gestört. Die Vermehrung der Epithelialzellen, welche im Normalfall die Follikelbildung begleitet, findet statt; ebenso die imaginale Differenzierung von Terminalfilament und Basalstiel.

12. Fehlen der Keimzellen ab 12 h.n.P. führt zur Bildung viel grösserer und meist keulenförmiger ungeteilter Ovariolen mit locker stehenden, grossen Epithelialzellen.

13. Fehlen der Keimzellen ab $17\frac{1}{2}$ h.n.P. bewirkt die Entstehung agametischer Follikel ohne eigentliche Epithelialbildung.

14. Blockierung der Keimzellen ab 24 h.n.P. führt zur Bildung von Sammelfollikeln infolge genereller, keimzellunabhängiger Entwicklung der Follikelepithelien.

15. Die Follikelbildung wird durch einen befristeten Induktionsvorgang ausgelöst.

16. Induktor ist die junge Eizelle kurz nach ihrer Entstehung. Jede Eizelle induziert nur „ihren“ Follikel.

17. In der basalen Ovarhälfte erfolgt die Follikelinduktion zwischen 9 und 24 h.n.P., das heisst mindestens 24 h vor der Bildung der ersten Follikel.

18. Die Induktion erfolgt in 3 Stufen: Zwischen 9 und 12 h.n.P. erfolgt (basal) ein Wachstumsimpuls; zwischen 12 und $17\frac{1}{2}$ h.n.P. wird die Abschnürung der (basalen) Follikel induziert und zwischen $17\frac{1}{2}$ und 24 h.n.P. erfolgt die Induktion des Zusammenschlusses der Epithelialzellen zum kubischen Follikelepithel und dessen Entwicklung zum Chorion sezernierenden Organ.

19. Die Entwicklung des Follikelepithels kann auch ohne vorangehende Follikelabschnürung erfolgen.

20. Die Nährzellen der Sekretionsphase bewirken die Reduktion der ihnen benachbarten Follikelepithelzellen. Im Gegensatz zu der Wirkung der Eizellen ist der reduzierende Einfluss der Nährzellen auf die Dauer ihrer Anwesenheit und ihrer Funktionsfähigkeit beschränkt.

21. Ausfall der Nährzellen führt zur Hypertrophie der Follikelepithelzellen.

22. Die Eizelle schirmt die ihr anliegenden Follikelepithelzellen gegen den Einfluss der Nährzellen ab.

23. Das Follikelepithel besitzt über seinen ganzen Umfang die Kompetenz zur Chorionsekretion.

24. Die polar verschiedene Ausbildung des Follikelepithels ist die Folge der antagonistischen Wirkung von Eizelle und Nährzellen. Die Polarität ist einzig von der Lage der Keimzellen abhängig.

25. In Sammelfollikeln mit mehreren dotterbildenden Eizellen wird bei jeder Eizelle ein Chorion abgeschieden.

26. Die Reduktion des Basis- und des Zwischengewebes (Ovarstroma) wird durch die Entwicklung der Ovariolen und ihrer Follikel bedingt.

27. Das *Drosophila*-Ovar gehört zu jenen Entwicklungssystemen, bei denen sich die beiden gegensätzlichen Entwicklungsprinzipien „abhängige“ und „unabhängige Differenzierung“ ablösen und durchdringen.

G. LITERATUR

- ABOIM, A. N. 1945. *Développement embryonnaire et post-embryonnaire des gonades normales et agamétiques de Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool., 52.
- AUERBACH, C. and MOSER, H. 1953. *An Analysis of the mutagenic action of Formaldehyd-Food I und II*. Z. ind. Abst. u. Vererbgs., 85.
- BODENSTEIN, D. 1947. *Investigations on the reproductive system of Drosophila*. J. exp. Zool., 104.
- 1950. *The postembryonic Development of Drosophila*. In Demerec, Biology of Drosophila, New York, Wiley a. Sons.

- BONNIER, G., LÜNING, K. G. and BARBERO, A. 1952. *On a possible mutagenic effect of x-rayed egg cytoplasm*. Hereditas, 38.
- BUCHER, N. 1951. *Zur Entwicklung röntgenbestrahlter Ovarien von Drosophila melanogaster*. Arch. Jul. Klaus-Stiftg., 26.
- CARLSON, J. G. 1950. *Effects of Radiation on Mitosis*. J. cell. comp. Physiol., 35, Suppl. 1.
- EPHRUSSI, B. u. HOTTINGER, H. 1951. *Cytoplasmic constituents of Heredity on an unstable cell state in yeast*. Cold Spring Harbor Symp. quant. biol., 16.
- FRIEDRICH-FREKSA, H. und KAUDEWITZ, F. 1951. *Versuche mit radioaktivem P an Amoeba proteus*. Verhandl. Deutsch. Zool. Ges. Wilhelmshaven.
- 1953. *Letale Spätfolgen nach Einbau von ^{32}P in Amoeba prot. und ihre Deutung durch genetische Einheiten*. Z. Natforsch. Tübingen, 86.
- GEIGY, R. 1931. *Action de l'ultra-violet sur le pôle germinal dans l'œuf de Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool., 38.
- GEIGY, R. und ABOIM, A. N. 1944. *Gonadenentwicklung bei Drosophila nach frühembryonaler Ausschaltung der Geschlechtszellen*. Rev. suisse Zool. 51.
- GLOOR, H. 1943. *Entwicklungsphysiologische Untersuchung an den Gonaden einer Letalrasse (lgl) von Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool., 50.
- GRAY, L. H. 1951. *Biological actions of ionizing radiations*. In BUTLER, T. A. V. and RANDALL, I. T. *Progr. in Biophysics and biophysical chemistry*, 2. London, Pergamon Press.
- GUYÉNOT et NAVILLE. 1929. *Les chromosomes et la réduction chromatique chez Drosophila melanogaster*. Cellule, 39.
- 1933. *Les premières phases de l'ovogénèse de Drosophila melanogaster*. Cellule, 42.
- HADORN, E. 1946. *Mutationsversuche mit Chemikalien an Drosophila*. I. *Wirkung von Colchicin auf transplantierte Larven-Ovarien nach Behandlung in vitro*. Rev. suisse Zool., 53.
- 1948. *Genetische und entwicklungsphysiologische Probleme der Insektenontogenese*. Folia biotheoret., 3.
- HADORN, E. und BERTANI, G. 1948. *Induktion männlicher Pigmentierung in somatischen Zellen von Drosophila-Ovarien*. Rev. suisse Zool., 55.
- HADORN, E. und FRITZ, W. 1950. *Veränderungen am transplantierten weiblichen Geschlechtsapparat von Drosophila mel. nach Behandlung der Imaginalscheiben in Salzlösungen*. Rev. suisse Zool., 57.
- Hsu, S. W. 1952. *The History of the Cytoplasmic Elements during Vitellogenesis in Dros. mel.* Quart. J. Microsc. Sc., 93.
- HUETTNER, A. 1924. *Maturation and Fertilization in Drosophila melanogaster*. J. Morph. a. Phys., 39.

- HUETTNER, A. 1940. *Differentiation of the gonads in the embryo of Drosophila melanogaster*. Genetics 25.
- KERKIS, J. 1933. *Development of gonads in Hybrids between Drosophila melanogaster and simulans*. J. exp. Zool., 66.
- KING, R. C., RUBINSON and SMITH. 1956. *Oogenesis in adult Drosophila mel.* Growth, 20.
- PAINTER, T. S. and REINDORP, E. 1939. *Endomitosis in the nurse cells of the ovary of Drosophila mel.* Chromosoma, 1.
- POULSON, D. F. 1937. *The embryonic development of Drosophila mel.* Actualités scient. et industrielles, 498.
- 1950. *Histogenesis, Organogenesis and Differenziation in the Embryo of Drosophila mel.* In DEMEREC, *Biology of Drosophila*, New York, Wiley a. Sons.
- RABINOWITZ, M. 1941. *Cytology and Embryology of Drosophila egg.* J. Morph., 69.
- RIES, E. 1932. *Die Prozesse der Eibildung und des Eiwachstums bei Pediculiden und Mallophagen.* Z. Zellforschg. u. mikr. Anat., 16.
- RUGH, R. 1954. *The effect of ionizing radiations on amphibian development.* J. cellular a. comp. physiol., 43, Suppl. 1.
- SCHLIEP, A. 1923. Arch. Zellforschg., 17.
- SCHRADER, F. 1953. *Mitosis*. Columbia Univ. Press, New York.
- STONE, WYSS and HAAS. 1947. *The production of Mutations in Staphylococcus aureus by Irradiation of the substrate.* Proc. Nation. Acad. Scienc., 33.
- VOGT, M. 1940a. *Zur Ursache der unterschiedlichen gonadotropen Wirkung der Ringdrüse von Drosophila funebris und melanogaster.* Roux' Archiv, 140.
- 1940b. *Die Förderung der Eireifung innerhalb heteroplastisch transplanterter Ovarien von Drosophila durch die gleichzeitige Implantation der arteigenen Ringdrüse.* Biol. Zentr. bl., 60.
- 1941a. *Zur Artspezifität der Ringdrüsenwirkung auf die Dotterbildung und die imaginale Differenzierung bei Drosophilaarten.* Biol. Zentr. bl., 61.
- 1941b. *Anatomie der pupalen Drosophila-Ringdrüse und ihre mutmassliche Bedeutung als imaginales Metamorphosezentrum.* Biol. Zentr. bl., 61.
- 1942. *Induktion von Metamorphoseprozessen durch implantierte Ringdrüsen bei Drosophila.* Roux' Archiv, 142.
-

Les Chiroptères africains du Musée Zoologique de Strasbourg

par

V. AELLEN

(Muséum d'Histoire naturelle, Genève)

Les collections du Musée Zoologique de Strasbourg renferment 30 espèces (34 formes) de Chiroptères africains représentés par 55 spécimens.

Ces espèces se répartissent ainsi:

Tunisie

Pipistrellus (P.) k. kuhli

Soudan

Eidolon helvum

Rhinopoma microphyllum

Taphozous (T.) p. perforatus

Taphozous (Liponycteris)
n. nudiventris

Mer Rouge

Nycteris th. thebaïca

Tanganyika

Epomophorus wahlbergi halde-
mani

Epomophorus labiatus minor

Rhinolophus fumigatus eloquens

Rhinolophus h. hildebrandti

Rhinolophus simulator

Hipposideros c. caffer

Trienops afer

Glauconycteris variegata papilio

Pipistrellus (P.) nanus

Pipistrellus (P.) permixtus sp.
nov.

Scotophilus leucogaster viridis

Scotophilus nigrita colias

Miniopterus natalensis arena-
rius

Tadarida (Chaerephon) l. lim-
bata

Congo

Tadarida (Chaerephon) lim-
bata subsp.

Cameroun anglais

Nycteris arge

Hipposideros caffer angolensis

*Hipposideros caffer guineensis**Pipistrellus (P.) nanus**Kerivoula phalaena**Kerivoula* sp.*Myotis whitleyi**Tadarida* sp.*Epomophorus w. wahlbergi***Madagascar***Pteropus r. rufus**Miniopterus majori**Miniopterus manavi***Union Sud-Africaine***Rousettus (R.) aegyptiacus leachi***Mascareignes***Pteropus subniger*

Si beaucoup de formes sont banales et ne requièrent que peu ou pas de commentaires, il n'en va pas de même pour plusieurs spécimens qui permettent d'augmenter nos connaissances sur la distribution géographique, de préciser de nombreux points de taxinomie et enfin de décrire une nouvelle espèce, assez remarquable, de Pipistrelle.

Les changements taxinomiques sont les suivants :

Pipistrellus (P.) permixtus sp. nov.

Miniopterus rufus Sanborn (1936) = *Miniopterus natalensis arenarius* Heller (1912).

L'état de conservation des spécimens est variable. Les Chauves-souris mises en peau ou empaillées, principalement les Roussettes, sont généralement en très mauvais état. Par contre, les animaux conservés en alcool sont bien préservés, quoiqu'ils soient presque tous plus ou moins décolorés.

Je ne mentionne, ci-dessous, que les Chiroptères dont l'origine africaine ne laisse aucun doute. Quelques bords et une série de peaux ne portant aucune étiquette ont été écartés, bien qu'il s'agisse parfois de Chauves-souris signalées en Afrique.

Les mesures craniennes ont été prises selon les suggestions de THOMAS (Proc. biol. Soc. Washington 18: 191-196, 1905).

Quelques spécimens, provenant du Cameroun, ont déjà été mentionnés lors d'un travail antérieur (AELLEN, 1952).

Je profite de cette occasion pour remercier chaleureusement M. le Professeur L. Bounoure et M. le Dr F. Gouin, respectivement directeur et conservateur du Musée zoologique de Strasbourg, de m'avoir permis d'étudier cette importante collection.

PTEROPIDAE

Eidolon helvum (Kerr).

Vespertilio vampyrus helvus Kerr, Linn. Animal Kingd. (1) 1: XVII, 91, n° 108, 1792. Sénégal.

N° 39¹. Sennar, Soudan, 1847 (Kotschy). ♀ empaillée, crâne inclus.

Répartition générale. — De la Somalie, Soudan, Aïr et Sénégal jusque dans la province du Cap.

Rousettus (Rousettus) aegyptiacus leachi (A. Smith).

Pteropus leachii A. Smith, Zool. J. 4: 433, 1829. « Gardens about Cape Town. »

N° 40. « Port Natal » (= Durban), Union Sud-Africaine, 1846. Spécimen immature empaillé; crâne extrait, incomplet.

N° 42. Id., 1845. ♂ empaillé, pas de crâne.

N° 41. Afrique du Sud, 1846. Spécimen (?♀) subadulte, empaillé, crâne inclus.

Répartition générale. — Union Sud-Africaine, Mozambique, Tanganyika, Kenya, Ouganda, sud du Soudan (Torit), est du Congo belge.

Pteropus rufus rufus E. Geoffroy.

Pteropus rufus E. Geoffroy, Cat. Mamm. Mus. nat. Hist. nat. Paris: 47, 1803. Madagascar.

Nos 36 et 37. Madagascar, 1868 (Mus. Réunion). 2 ♂♂ empaillés, crânes inclus.

N° 38. Madagascar, 1829 (Schölt). Spécimen (?♀) empaillé; crâne extrait, incomplet.

Répartition générale. — Madagascar, toute l'île, excepté le sud.

Remarques. — Alors que le n° 37 correspond parfaitement à *P. r. rufus* (*sensu* ANDERSEN, 1912), les nos 36 et 38 sont inter-

¹ Les animaux conservés en alcool portaient un numéro d'ordre que j'ai respecté. Par contre, j'ai donné un nouveau numéro aux spécimens en peau qui n'en possédaient pas.

médiaires, par leurs dimensions externes, entre *P. r. rufus* et *P. r. princeps* Anders. L'examen du crâne du n° 38 me fait toutefois penser qu'il s'agit plutôt de *P. r. rufus*. A vrai dire, la sous-espèce *princeps* n'est basée que sur un seul spécimen de taille plus grande. Il est possible et même probable que c'est un synonyme de *P. rufus rufus*, espèce pour laquelle il ne serait alors plus nécessaire d'utiliser une nomenclature trinominale.

P. r. princeps serait localisé dans le sud-est de l'île, le type étant de Fort Dauphin. Les exemplaires du Musée de Strasbourg ne portant pas d'indications de lieux de capture précis, on se voit contraint de laisser le problème en suspens.

	N° 37 ♂	N° 38 ?♂	N° 36 ♀	<i>P. r. rufus</i> mesures selon ANDERSEN (1912) et DORST (1947 b)	<i>P. r. princeps</i> mesures selon ANDERSEN (1912) ♂
	mm	mm	mm	mm	mm
Avant-bras	157	167	168	140-165,5	170,5
3 ^e métacarpe	111	114	117	109-113	119,5
4 ^e métacarpe	107	112	118	108-110	116
5 ^e métacarpe	113	116	120	110-116	120
Crâne, long. palais ¹ .	—	35	—	34-36,2	37
Larg. zygomatique .	—	39	—	37,7-40	42
Rang. dent. sup. C-M ²	—	27	—	26-27,8	28,7
Rang. dent. inf. C-M ₃	—	29,8	—	29,2-30,8	32,5

¹ Du palation au foramen des incisives.

***Pteropus subniger* (Kerr).**

Vespertilio vampyrus subniger Kerr, Linn. Animal Kingd. (1) 1: XVII, 91, n° 107, 1792. Ile de la Réunion¹.

N° 35. Ile Maurice, 1876 (Schneider). ♂ empaillé, crâne inclus.

Répartition générale. — Archipel des Mascareignes: Réunion, Maurice.

Remarques. — Ce spécimen est assez grand et les quelques mesures que l'on peut prendre sur l'animal monté dépassent, en général, les maxima d'ANDERSEN (1912): 3^e doigt, 75 mm + 50 + 63; 4^e doigt, 74,5 + 42 + 42; 5^e doigt, 78 + 32 + 28.

¹ Voir ANDERSEN, 1912: 168.

Epomophorus wahlbergi wahlbergi (Sundevall).

Pteropus wahlbergi Sundevall, Öfv. K. Vetensk. Akad. Förh. Stockholm 3: 118, 1846. Près de Durban, Union Sud-Africaine.

N° 43. « Süd-Afrika, Pongoland »¹, 1846 (Bachmann). Spécimen subadulte en peau; crâne inclus, incomplet.

Répartition générale. — Du Kenya et de l'Ouganda à l'est de la province du Cap.

Epomophorus wahlbergi haldemani (Halowell).

Pteropus haldemani Halowell, Proc. Acad. nat. Sci. Philad. 3: 52, 1846. « West Africa » (? Liberia).

N° 26. « Malala, D. O. Afrika » (= Tanganyika)², 1911 (Stierle). Spécimen subadulte en peau, pas de crâne.

Répartition générale. — Du Cameroun à la Somalie; au sud jusqu'à l'Angola et à la Rhodésie du Nord.

Epomophorus labiatus minor Dobson.

Epomophorus minor Dobson, Proc. zool. Soc. 1879: 715, 1880. Ile de Zanzibar.

N° 25. « Malala, D. O. Afrika » (= Tanganyika)², 1911 (Stierle). Spécimen adulte en peau, pas de crâne.

Répartition générale. — De la Somalie et de l'Ethiopie à la Rhodésie du Nord; à l'ouest jusqu'au Congo belge oriental.

RHINOPOMIDAE

Rhinopoma microphyllum (Brünnich).

Vespertilio microphyllus Brünnich, Dyrenes Hist. Univ. nat. Theater Copenhagen 1: 50, 1782. Giza, Egypte.

N° 28. Sennar, Soudan, 1846. Spécimen en peau; crâne extrait, incomplet.

¹ S'il s'agit du pays de la rivière Pongola, les coordonnées sont env. 27° 30' S, 31° 30' E. S'il y a faute d'orthographe et que l'on doive lire « Pondoland », les coordonnées seraient alors 31° 20' S, 29° 30' E.

² L'étiquette originale, écrite à la main, est peu lisible; il s'agit peut-être de « Halala ». Quoiqu'il en soit, je ne trouve dans aucun atlas ni Malala ni Halala. On peut se demander s'il n'y a pas eu une faute et que le collecteur

Répartition générale. — Bordure septentrionale du Sahara, du Maroc au Soudan¹; Egypte, Arabie, Palestine, Perse (?).

EMBALLONURIDAE

Taphozous (Taphozous) perforatus perforatus E. Geoffroy.

Taphozous perforatus E. Geoffroy, Descr. Egypte 2: 126, 1818. Egypte.

N° 29. Sennar, 1846. Spécimen (?♀) en peau; crâne extrait, incomplet.

N° 31. Sennar. Spécimen (probabl. ♀) en peau, crâne inclus.

Répartition générale. — Afrique nord-orientale, jusqu'aux Indes: Egypte, Soudan, Somalie, sud de l'Arabie. Signalé encore à Djenné (Soudan français) et Kilwezi (Upemba, sud-est du Congo belge), mais ces deux dernières citations demandent encore une confirmation, car les localités sont tout à fait en dehors de l'aire normale de répartition de l'espèce.

Taphozous (Liponycteris) nudiventris nudiventris Cretzschmar².

Taphozous nudiventris Cretzschmar, in Rüppell, Atl. Reise nördl. Afrika, Säugeth.: 70, 1830. Giza, Egypte.

N° 30. Sennar, 1846. ♂ en peau; crâne extrait, incomplet.

Répartition générale. — Irak, Palestine, Arabie, Egypte, Erythrée, Somalie, Soudan, Tanganyika. Cette espèce, qui a peut-être été confondue avec *T. mauritanus*, est encore signalée en des points isolés: Fort-Archambault (Oubangui-Chari), Zinder (Damergou, Niger), Fort-Gouraud (Mauritanie) et Guinée portugaise.

a voulu écrire « Mahaha » (3° 8' S, 33° 52' E) ou peut-être « Mamala » (2° 35' S, 33° 54' E); ces deux dernières localités sont situées dans l'aire normale de *E. w. haldemani* au Tanganyika.

¹ *R. microphyllum* est signalé encore dans la grotte du Lapin à Atar (Mauritanie) par DEKEYSER et VILLIERS (Bull. Dir. Mines, Dakar 2 (15): 415-420, 1952). Les autres localités sahariennes sont: Foum-el-Hassane (sud-ouest du Maroc) et Laghouat.

² J'utilise une nomenclature trinominale, car HARRISON (Ann. Mag. nat. Hist. (12) 8: 897-910, 1955) vient de créer une sous-espèce de *T. nudiventris*.

NYCTERIDAE

Nycteris arge Thomas.

Nycteris arge Thomas, Ann. Mag. nat. Hist. (7) 12: 633, 1903. Efoulèn, Cameroun.

N° 20 a. Mukonje, Cameroun anglais (4° 37' N, 9° 30' E), 1905 (Rhode). ♂ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — De la Somalie au Liberia, par le Kenya, le Congo belge et le Cameroun; au sud jusqu'au nord-est de l'Angola.

Remarques. — J'ai déjà signalé ce spécimen et indiqué ses mesures dans un travail antérieur (AELLEN, 1952: 48, 49).

Nycteris thebaica thebaica E. Geoffroy.

Nycteris thebaicus E. Geoffroy, Descr. Egypte 2: 119, 1818. Egypte.

N° 32. Mer Rouge, 1840. Spécimen en peau, pas de crâne.

Répartition générale. — Il est difficile de donner une répartition précise de cette sous-espèce, ensuite de la création de plusieurs autres formes. ELLERMAN et MORRISON-SCOTT (1951) indiquent seulement: Egypte, Palestine, Corfou, nord de l'Arabie. D'autres auteurs l'on signalée au Soudan, Ethiopie, Somalie, Rhodésie du Nord et vers l'ouest, où elle est probablement confondue avec la forme *gambiensis*, en Nigeria, Damergou, Tibesti, etc.

RHINOLOPHIDAE

Rhinolophus fumigatus eloquens Andersen.

Rhinolophus Hildebrandti eloquens Andersen, Ann. Mag. nat. Hist. (7) 15: 74, 1905. Entebbe, Ouganda.

N° 16. Marienhof, Wugiri, Tanganyika (5° 6' S, 38° 29' E), 1904 (Ranniger). ♂ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — Soudan, Ouganda, Kenya, Tanganyika, est du Congo belge (Ituri, Ruanda-Urundi, Katanga).

Remarques. — Ce spécimen présente des mesures maxima pour cette forme¹: avant-bras 60 mm, 3^e métacarpe 42, 4^e métac. 44,5, 5^e métac. 45, queue 30, feuille nasale 23×13,5, long. du crâne (aux canines) 26, rang. dent. sup. C-M³ 9,7. Dans l'est, *R. f. eloquens* est signalé vers le sud seulement jusqu'à l'île de Pemba; Wugiri n'est guère qu'à 75 km de la côte, en face de Pemba.

J'ai suivi ELLERMAN, MORRISON-SCOTT et HAYMAN (1953) qui font de *eloquens* une forme de *R. fumigatus* plutôt que de *hildebrandti*, probablement parce que *eloquens* et *hildebrandti* se rencontrent dans les mêmes régions.

***Rhinolophus hildebrandti hildebrandti* Peters.**

Rhinolophus hildebrandtii Peters, Mber. preuss. Akad. Wiss. Berlin 1878: 195, 1878. Ndi, district de Taita, Kenya.

N° 6. Morogoro, Tanganyika (6° 48' S, 37° 40' E), 1909 (Hürstel). ♂ en alcool, crâne extrait.

N° 13. Kwa-Mdoe, Usegua, Tanganyika (5° 23' S, 38° 1' E), 1908 (Ranniger). ♂ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — Afrique de l'Est: de l'Ouganda et du Kenya jusqu'au Transvaal occidental, par le Tanganyika, le Nyassa, le Mozambique, les Rhodésies du Nord et du Sud.

Remarques. — ELLERMAN, MORRISON-SCOTT et HAYMAN (1953), en maintenant une nomenclature trinominale pour *R. hildebrandti*, conservent, implicitement dans cette espèce, la forme que DE BEAUX (1922, 1924) a nommée *R. hildebrandti perauritus* et provenant de la Somalie méridionale. Vu les dimensions relativement faibles de cette forme *perauritus* (avant-bras 54-55 mm, long. du crâne 25,5) on pourrait la considérer comme appartenant à l'espèce *fumigatus*, au sens de SANBORN (*in* ELLERMAN, MORRISON-SCOTT et HAYMAN, 1953). Ces auteurs ont probablement choisi cette solution pour éviter l'incompatibilité de la coexistence de plusieurs formes de la même espèce dans une région donnée; on sait, en effet, que *R. f. fumigatus* est également signalé en Somalie.

Les deux spécimens du Musée de Strasbourg correspondent parfaitement aux mesures des auteurs, en particulier à celles d'ANDERSEN (1905) et de ROBERTS (1954).

¹ Voir ANDERSEN (1905), HOLLISTER (1918), DE BEAUX (1924) et ALLEN et LOVERIDGE (1933).

Rhinolophus simulator Andersen.

Rhinolophus simulator Andersen, Ann. Mag. nat. Hist. (7) 14: 384, 1904.
Mazoe, Mashonaland, nord-est de la Rhodésie du Sud.

N° 10. Tosamaganga, Tanganyika (7° 50' S); 35° 32' E), 1913 (Rolle). ♀ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — Afrique du Sud-Est: Natal, Transvaal, Rhodésie du Sud, Mozambique méridional, Rhodésie du Nord, Nyassa. A cette répartition indiquée par ELLERMAN, MORRISON-SCOTT et HAYMAN (1953) doit encore s'ajouter Iringa au Tanganyika¹. Iringa est situé à quelques kilomètres de Tosamaganga; le spécimen du Musée de Strasbourg vient donc confirmer la présence de cette rare espèce dans le sud-ouest du Tanganyika. Ses principales mesures sont: avant-bras 46 mm, 3^e métacarpe 31, 4^e métac. 34,5, 5^e métac. 34, queue 26, feuille nasale 12,5×8, long. du crâne (aux canines) 18,6, larg. zygomatique 8,7, rang. dent. sup. C-M³ 6,7, rang. dent. inf. C-M₃ 6,8.

HIPPOSIDERIDAE

Hipposideros caffer caffer Sundevall.

Rhinolophus caffer Sundevall, Öfv. K. Vetensk. Akad. Förh. Stockholm 3: 118, 1846. Près de Durban, Union Sud-Africaine.

N° 27. « Malala, D. O. Afrika » (= Tanganyika)², 1911 (Stierle). Spécimen en peau, pas de crâne.

Répartition générale. — Union Sud-Africaine jusqu'en Erythrée au nord; à l'ouest jusqu'au Cameroun et même Guinée française (AELLEN, 1956).

Remarques. — Les mesures externes de ce spécimen sont: avant-bras 48,5 mm, 3^e doigt 35 + 15 + 18,5, 4^e doigt 36 + 10,5 + 9,5, 5^e doigt 32 + 13 + 11, tibia 20,5, pied 8. Elles correspondent toutes à la moyenne de celles indiquées pour cette forme par ANDERSEN (1906, 1907).

¹ Voir JOBLING, Parasitology, Cambridge 23: 79, 1931.

² Voir note 2, p. 193.

Hipposideros caffer angolensis (Seabra).

Phyllorhina angolensis Seabra, J. Sci. math. phys. nat. Lisboa (2) 5: 256, 1898. Benguela, Angola.

Nos 20e.1, 20e.2, 20e.3. Mukonje, Cameroun anglais (4° 37' N, 9° 30' E), 1905 (Rhode). 1 ♂ (20e.1) et 2 ♀♀ en alcool, crânes extraits.

Répartition générale. — Du Damaraland au Cameroun.

Remarques. — J'ai déjà signalé ces spécimens et indiqué leurs mesures dans mon travail de 1952. Toutefois, le seul exemplaire dont je n'avais pas extrait le crâne (♂ *b* de 1952) s'est révélé appartenir à une autre forme (voir ci-dessous).

H. c. angolensis est nouveau pour le Cameroun.

Hipposideros caffer guineensis Andersen.

Hipposiderus caffer guineensis Andersen, Ann. Mag. nat. Hist. (7) 17: 275, 278, 1906. Riv. Como, Gabon.

N° 20 *f*. Mukonje, Cameroun anglais, 1905 (Rhode). ♂ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — Côtes de la Guinée, du Sénégal (AELLEN, 1957) au Gabon.

Remarques. — Comme je l'indique ci-dessus, j'ai signalé ce spécimen sous le nom de *H. c. angolensis* dans mon travail de 1952 (n° ♂ *b*). Je n'en avais pas extrait le crâne, ne m'attendant pas à trouver deux formes de la même espèce dans du matériel d'un seul lot, provenant du même lieu. Les caractères sont toutefois nets: long. du crâne (aux canines) 19 mm, larg. zygomatique 10,7, larg. mastoïde 9,8, larg. M³-M³ 7,3, rang. dent. sup. C-M³ 7, avant-bras 50.

Comme j'ai déjà eu souvent l'occasion de le dire, les formes ou espèces du groupe *caffer* doivent être revisées; il est très probable que l'« espèce » *caffer* sera démembrée en deux ou trois espèces dans lesquelles seront réparties toutes les formes signalées jusqu'à présent comme des sous-espèces de *caffer*.

Triaenops afer Peters.

Triaenops afer Peters, Mber. preuss. Akad. Wiss. Berlin 1876: 913, 1877. Mombasa, Kenya.

N° 7. Tanga, Tanganyika, 1901 (Hoffmann). ♀ en alcool; crâne extrait, incomplet.

Répartition générale. — Kenya et Tanganyika.

Remarques. — La distinction entre *T. afer* et *T. persicus* a souvent été discutée, en particulier par DOBSON. Si nous suivons la table de détermination établie par DORST (1948), nous arrivons à *persicus*. En effet, chez l'exemplaire du Musée de Strasbourg, le prolongement lancéolé de la selle se termine par une seule pointe; il n'est pas bifide comme chez *afer* typique. D'autre part, ses faibles dimensions (avant-bras 50 mm, rang. dent. sup. C-M³ 6,4) correspondent mieux à *persicus*. Toutefois, comme DOBSON l'a écrit¹, les caractères invoqués pour distinguer *afer* de *persicus* sont variables et ont conduit cet auteur à ne retenir qu'une seule espèce. Ce point de vue n'est pas adopté par les auteurs plus récents qui considèrent *afer* comme espèce distincte.

Quelques auteurs récents ont indiqué *T. persicus* sur le sol africain: ALLEN (1939) suivi par ELLERMAN et MORRISON-SCOTT (1951) en Egypte. Cependant, il semble qu'il a pu y avoir confusion avec *Asellia tridens*, car aucun auteur ayant étudié spécialement les Chiroptères égyptiens n'en fait mention, ainsi ANDERSON et DE WINTON², FLOWER³ et SANBORN et HOOGSTRAAL⁴. HARRISON⁵, qui a revu les *T. persicus* du British Museum, n'en cite aucun provenant d'Afrique.

T. afer a été maintes fois signalé à Tanga ou dans les environs immédiats.

VESPERTILIONIDAE

Glauconycteris variegata papilio Thomas.

Glauconycteris papilio Thomas, Ann. Mag. nat. Hist. (7) 15: 77, 1905. Entebbe, Ouganda.

N° 9. Kwa-Mdoe, Usegua, Tanganyika (5° 23' S, 38° 1' E), 1908 (Ranniger). ♀ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — De la Gambie à l'Ouganda et au Kenya, par la Gold Coast, le Cameroun, le Congo belge; au sud jusqu'en

¹ Proc. zool. Soc. London: 717, 718, 1879; Rep. Brit. Assoc. Adv. Sci. 1880: 179, 1880.

² Zoology of Egypt. Mammalia. London: XVII + 374, 1902.

³ Proc. zool. Soc. London: 369-450, 1932.

⁴ Journ. Egypt. Publ. Health Assoc. 30: 103-121, 1955.

⁵ Ann. Mag. nat. Hist. (12) 8: 897-910, 1955.

Angola et au Zululand septentrional, par le Gabon, le Congo belge, le Tanganyika, le Nyassa et le Mozambique.

Pipistrellus (Pipistrellus) kuhli kuhli (Kuhl).

Vespertilio kuhlii Kuhl, Ann. Wetterau. Ges. Naturk. 4 (2) : 199, 1819. Trieste.

Nos 15.1 et 15.2. Gabès, Tunisie, 1922 (Dr Sicard). ♂ et ♀ en alcool, crâne du ♂ extrait.

Répartition générale. — Sud de l'Europe, nord de l'Afrique (Maroc, Algérie, Tunisie, Lybie, Egypte), Asie Mineure, Turkestan russe, Arabie, à l'est jusqu'aux Indes. DELEUIL et LABBÉ¹ ont récemment signalé cette forme en de nombreux points de la Tunisie et en ont discuté la variabilité.

Pipistrellus (Pipistrellus) nanus (Peters).

Vespertilio nanus Peters, Reise Mossamb. Säugeth.: 63, 1852. Inhambane, Mozambique.

N° 2. Tanga, Tanganyika, 1912 (Ranniger). ♀ en alcool; crâne extrait, incomplet.

N° 11. Marienhof, Wugiri, Tanganyika (5° 6' S, 38° 29' E), 1904 (Ranniger). ♂ en alcool, crâne inclus.

Nos 19a et 19b. Id., 1905 (Ranniger). ♂ subadulte et ♀ en alcool, crâne de la ♀ extrait.

Nos 20d.1, 20d.2 et 20d.3. Mukonje, Cameroun anglais (4° 37' N, 9° 30' E), 1905 (Rhode). 2 ♂♂ et 1 ♀ en alcool, crâne d'un ♂ (20d.1) extrait.

Répartition générale. — Presque toute l'Afrique, au sud du Sahara: de la Sénégambie à l'Ethiopie et à la Somalie; au sud jusqu'en Angola (à l'ouest) et à la province du Cap (à l'est).

Remarques. — J'ai déjà signalé les trois spécimens du Cameroun (AELLEN, 1952: 82). Chez le ♂ adulte (20d.2), la première incisive supérieure est presque unicuspidée, la seconde pointe étant à peine ébauchée.

Pipistrellus (Pipistrellus) permixtus *sp. nov.*

Type. — ♀ adulte, Dar es Salam, Tanganyika, 1905 (Hürstel). Musée zoologique de Strasbourg, n° 12c. Spécimen en alcool; crâne extrait, incomplet.

¹ Bull. Soc. Sci. nat. Tunisie 8: 45-46, 237-241, 1955.

Description. — C'est une espèce très semblable à *P. nathusii* (Keys. et Blas.), mais à oreilles plus petites, n'arrivant pas à l'extrémité du museau lorsqu'elles sont repliées en avant; le sommet de l'oreille est arrondi, son bord externe légèrement concave. Le tragus est falciforme; sa plus grande largeur est atteinte un petit peu au-dessus du niveau de la moitié de la hauteur de son bord interne. Le pouce est allongé. Le patagium, attaché à la base du 5^e orteil, englobe complètement la queue. Le pied est plutôt petit. Le lobe postcalcanéen, large, bien marqué, est du type *nathusii*¹. Les plis palataux présentent la disposition suivante: 1^{er} entier, droit, situé au milieu de C; 2^e entier, biarqué, au milieu de P⁴; les quatre suivants interrompus au milieu, incurvés en arrière et partant respectivement du milieu de M¹, du bord antérieur de M², du bord postérieur de M² et du milieu de M³; 7^e entier, biarqué, partant du bord postérieur de M³; cette disposition rappelle beaucoup celle figurée par KUZYAKIN² pour *nathusii*.

À la face dorsale, les poils s'étendent à peine sur le cinquième proximal de l'uropatagium. La couleur primitive ne peut être indiquée, car après un séjour de plus de 50 ans dans de l'alcool, l'animal est fortement décoloré. Tout au plus, peut-on dire que les poils sont bicolores, foncés à la base, clairs au sommet.

La forme générale du crâne est assez semblable à celle de *nathusii*. Le rostre est toutefois moins déprimé et la boîte crânienne plus petite. Les processus préorbitaires sont moins développés. Comme chez *nathusii*, il n'y a pas de processus postorbitaires. La crête sagittale est bien marquée postérieurement, de même que les crêtes lambdoïdes. Les arcades zygomatiques sont fines. Le crâne est relativement plus large que chez les espèces du groupe *pipistrellus* (voir ci-dessous).

La dentition est du type *pipistrellus-nathusii*: I¹ est bicuspidé, la pointe postérieure arrive aux deux tiers de la hauteur de la pointe antérieure. I² atteint la hauteur de la pointe postérieure de I¹; une première pointe secondaire latéro-externe se voit parfaitement par-devant et arrive au tiers de la hauteur de la couronne; une deuxième pointe postéro-interne est plus basse. C a une pointe postérieure atteignant le sixième de la hauteur de la couronne.

¹ Voir KUZYAKIN, 1950, fig. 115 b, p. 343.

² KUZYAKIN, 1950, fig. 117 D, p. 356.

P² est situé sur le côté interne de la rangée dentaire et est bien développé, environ comme I²; sa pointe, qui arrive au niveau de la pointe postérieure de C, est bien visible en vue latérale. P₄ est séparé de C et atteint environ les deux tiers de la hauteur de la couronne de C. Les molaires sont normales. Les incisives inférieures sont tricuspides et légèrement imbriquées. C est plus large que chez *nathusii*; sa longueur le long du cingulum est subégale à la hauteur de la couronne à son bord antérieur. P₂, dont la couronne est dirigée vers l'extérieur, mesure la moitié de la hauteur de C et les trois quarts à quatre cinquièmes de P₄.

	mm		mm
Tête et corps env.	42	Crâne:	
Avant-bras	33,5		
Pouce	5	Longueur totale	12,6
3 ^e doigt, métacarpe	32	» condylobasale	12,2
» 1 ^{re} phalange	11,5	» basisinuale	9,4
» 2 ^e phalange	16,5	» I ¹ -M ³	5,5
4 ^e doigt, métacarpe	31,5	» C-M ³	4,8
» 1 ^{re} phalange	10,5	Largeur zygomatique	8,4
» 2 ^e phalange	9,5	» mastoïde	7,4
5 ^e doigt, métacarpe	31	» boîte crânienne ¹	6,5
» 1 ^{re} phalange	6,5	» interorbitaire	3,5
» 2 ^e phalange	6	» aux bords ext. C-C	4,2
Tibia	12,5	» » » M ³ -M ³	5,8
Pied (avec griffes)	6	» rostre ²	4,8
Queue env.	33	Longueur de la mandibule	9,7
Oreille env.	12,5	» I ₁ -M ₃	5,9
Tragus, bord interne	3,5	» C-M ₃	4,9
» largeur maximum	2		

¹ Au-dessus de l'insertion postérieure des arcades zygomatiques.

² Aux processus préorbitaires.

Remarques. — Si cette nouvelle *Pipistrelle* ne présente aucun caractère singulier, elle ne s'en trouve pas moins différenciée par un ensemble de particularités qui ne se rencontrent chez aucune autre forme africaine.

Parmi les espèces à I¹ bicuspidé, à I² bien développé et à P² bien visible extérieurement, elle trouve sa place dans la clef suivante:

1. Taille relativement grande. Avant-bras de 32 mm et davantage. Long. du crâne de plus de 12,5 mm. Rangée dentaire supérieure (C-M³) de 4,6 à 5 mm. 2.

— Taille plus petite. Avant-bras de 32 mm environ ou moins. Long. du crâne de moins de 12,5 mm généralement.

Rang. dent. sup. (C-M³) de 3,6 à 4,2 mm: *nanus*, *pipistrellus*, *helios*, *nanulus*, *stampfli*.

2. Lobe calcanéen présent.

3.

— Lobe calcanéen absent: *fuscipes*¹.

3. Canine inférieure longue et étroite; son plus grand diamètre le long du cingulum dépasse à peine la moitié de la hauteur de la couronne à son bord antérieur. Rostre déprimé. Crâne allongé, rapport larg. zygomatique X 100/ long. totale = 600 à 610: *nathusii*².

— Canine inférieure plus forte; son plus grand diamètre le long du cingulum est subégal à la hauteur de la couronne à son bord antérieur. Rostre moins déprimé. Crâne moins allongé, rapport larg. zygomatique X 100/ long. totale = 666: *permixtus* sp. nov.

Il faut rechercher dans la faune paléartique et orientale des affinités plus précises avec cette nouvelle espèce.

Le synopsis de DOBSON (1878: 211) conduit à *abramus*, espèce à laquelle cet auteur rattache *nathusii* et *coromandra* comme synonymes. DOBSON signale « *abramus* » à Zanzibar (spécimen e'', p. 228). *P. abramus* (Temm.) est considéré aujourd'hui comme une espèce uniquement extrême-orientale (à l'ouest, jusqu'en Birmanie, selon ELLERMAN et MORRISON-SCOTT, 1951); il est probable que l'exemplaire de Zanzibar, de DOBSON, appartient à la même espèce que le mien, de Dar es Salam.

TATE (1942) a fait une revision des formes paléarctiques et orientales du genre *Pipistrellus*. Parmi les subdivisions adop-

¹ G. M. ALLEN (1939), suivi par SWYNNERTON et HAYMAN (1951), considère *fuscipes* comme sous-espèce de *rueppeli*, HAYMAN (1954) va même plus loin et pense que *fuscipes* n'est qu'un synonyme de *rueppeli*; cet auteur arrive à cette conclusion après avoir constaté que chez deux *P. rueppeli* de l'Uélé, l'un présente une I² bien développé, alors que chez l'autre, cette dent est très petite, comme c'est le cas normal pour cette espèce. On peut appuyer cette opinion en ajoutant que chez *rueppeli* aussi bien que chez *fuscipes*, le lobe postcalcanéen fait défaut. Cependant, il est loin d'être prouvé que les grandeurs relatives des incisives supérieures soient un caractère variable chez *Pipistrellus*; HAYMAN s'est peut-être trouvé en présence de deux espèces en examinant ces Pipistrelles de l'Uélé. Ce même auteur a identifié comme *P. fuscipes* une Chauve-souris de l'Ituri récoltée par FAIN (FAIN, Rev. Zool. Bot. Afr. 48: 99, 1953).

² *P. nathusii* n'appartient pas à la faune africaine, mais comme « *abramus* » (= *nathusii*, sensu DOBSON) a été signalé à Zanzibar, je l'inclus tout de même dans cette clef pour bien montrer ses affinités étroites avec la nouvelle espèce.

tées (p. 235), la nouvelle espèce peut entrer dans les groupes *abramus*, *coromandra* et *ceylonicus*:

Rapport: $\frac{\text{larg. zygomat.} \times 100}{\text{long. totale}}$, selon les mesures de TATE:

groupe <i>pipistrellus</i>			
(qui comprend <i>nathusii</i>) . . .	de 601 à 610,	moyenne	606
groupe <i>coromandra</i>	» 603 » 666	»	633
groupe <i>ceylonicus</i>	» 664 » 734	»	688
groupe <i>abramus</i>	» 639 » 734	»	693
<i>P. permixtus</i>			666

Si l'on ne prend en considération que les groupes *coromandra* et *ceylonicus*, dont les représentants habitent les côtes de l'océan Indien, il semble, pour autant qu'un seul spécimen permette d'en juger, que c'est de *coromandra* (*sensu lato*) que *P. permixtus* est le plus proche. Parmi les formes ou espèces de ce groupe *coromandra*, on ne peut guère retenir que *aladdin* Thom. (Perse) et *coromandra* Gray (Indes)¹ pour comparaison. Selon les mesures de TATE (1942: 291), ces formes sont toutes deux de taille inférieure à *permixtus*.

Il est certain que *P. permixtus* n'est pas un élément autochtone de la faune africaine. Ses affinités le rapprochent nettement des formes paléarctiques et orientales.

De Zanzibar, on connaît une autre espèce, *Vesperugo pulcher* Dobs., que MOREAU et PAKENHAM (1941) ont cru bon de rapporter à *Pipistrellus abramus*, comme sous-espèce. D'après la description originale (Proc. zool. Soc. London: 471, 472, 1875) et le synopsis de DOBSON (1878: 209-211), *pulcher* est très voisin de *rueppeli* et n'en constitue probablement qu'une sous-espèce. SWYNNERTON et HAYMAN (1951) n'entrent d'ailleurs pas dans les vues de MOREAU et PAKENHAM et maintiennent *P. pulcher* comme espèce distincte.

Scotophilus leucogaster viridis (Peters).

Nycticejus viridis Peters, Reise Mossamb. Säugeth.: 67, 1852. Ile de Mozambique, Mozambique.

Nos 4.1, 4.2, 4.3 et 4.4. Morogoro, Tanganyika (6° 48' S, 37° 40' E) 1909 (Hürstel). 1 ♂ et 3 ♀♀ en alcool, crânes du ♂ (4.1) et d'une ♀ (4.2) extraits.

¹ *Micropus* Pet. (N. W. des Indes), très mal connu, est mis en synonymie de *P. c. coromandra* (avec un ?) par ELLERMAN et MORRISON-SCOTT (1951).

N° 14. Kwa-Mdoe, Usegua, Tanganyika (5° 23' S, 38° 1' E), 1908 (Ranniger). ♂ subad. en alcool; crâne extrait, incomplet.

Répartition générale. — Tanganyika, Nyassa, Mozambique, nord du Zululand.

Remarques. — J'ai montré (AELLEN, 1957) que *leucogaster* n'appartient pas au groupe *nigrita* du genre *Scotophilus*, tel qu'il est compris par THOMAS et WROUGHTON (1908), mais bien au groupe *viridis* de ces auteurs. Comme *viridis* a été décrit plus d'un quart de siècle après *leucogaster*, ce dernier prévaut comme nom de groupe.

Les principales mesures de nos spécimens sont les suivantes:

	4.1 ♂	4.2 ♀	4.3 ♀	4.4 ♀	14 ♂ subad.
	mm	mm	mm	mm	mm
Avant-bras	46	44,5	46,5	46	46,5
3 ^e doigt, métacarpe	43	42,5	45	44,5	43,5
» 1 ^{re} phalange	15,5	15	16	15,5	15
» 2 ^e phalange	21,5	18	21	19	21
4 ^e doigt, métacarpe	42	41,5	43,5	43	42,5
» 1 ^{re} phalange	12	11	12	12	13
» 2 ^e phalange	10	9	10	9,5	10
5 ^e doigt, métacarpe	39	39	40	40	40
» 1 ^{re} phalange	8,5	8	8	8,5	8,5
» 2 ^e phalange	5,5	6,5	7	6,5	6
Tibia	18,5	19	19,5	19	18
Pied (avec griffes)	8,5	9	9	9	8
Queue	47	48	51	48	46
Oreille	16,5	16,5	17	16	17
Crâne:					
Longueur totale	16,8	17	—	—	—
» condylobasale	16,2	16,3	—	—	—
» basisinuale	12	12,2	—	—	—
» I ¹ -M ³	6,9	6,9	—	—	7,2
» C-M ³	6,2	6,2	—	—	6,5
Largeur zygomatique	12,6	12,5	—	—	—
» mastoïde	10,8	10,8	—	—	—
» interorbitaire	4,5	4,5	—	—	4,9
» aux bords ext. C-C	6	5,9	—	—	6,2
» » » M ³ -M ³	8,5	7,9	—	—	8,3
Longueur de la mandibule	12,7	12,9	—	—	13,2
» I ¹ -M ³	7,6	7,5	—	—	7,7
» C-M ³	6,8	6,7	—	—	7

S. leucogaster viridis n'était signalé, au Tanganyika, qu'à Morogoro.

Scotophilus nigrita colias Thomas.

Scotophilus nigrita colias Thomas, Ann. Mag. nat. Hist. (7) 13: 207, 1904. Fort Hall, Kenya.

Nos 12b.1 et 12b.2. Dar es Salam, Tanganyika, 1905 (Hûrstel). ♂ subad. et ♀ subad. en alcool; crâne du ♂ extrait, incomplet.

Répartition générale. — Ouganda, Kenya, Tanganyika (Dar es Salam, etc.).

	12b.1 ♂	12b.2 ♀
	mm	mm
Avant-bras	53,5	57,5
3 ^e métacarpe	46,5	50
5 ^e métacarpe	42,5	45
Queue	50	51
Tibia	21	22,5
Pied (avec griffes)	10	9
Crâne:		
Longueur I ¹ -M ³	8,3	
» C-M ³	7,2	
» P ⁴ -M ³	5,7	
Largeur mastoïde	11,2	
» interorbitaire	5	
» aux bords ext. de C-C . . .	7,3	
» » » M ³ -M ³	9,3	
Longueur de la Mandibule . . .	15,2	
» I ₁ -M ₃	9,1	
» C-M ₃	8,2	

Kerivoula phalaena Thomas.

Kerivoula phalaena Thomas, Ann. Mag. nat. Hist. (8) 10: 281, 1912. Bibianaha, Gold Coast.

N° 20h. Mukonje, Cameroun anglais (4° 37' N, 9° 30' E), 1905 (Rhode). ♀ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — Gold Coast et Cameroun.

Remarques. — J'ai signalé ce spécimen dans mon travail de 1952 et j'en ai donné les mesures.

Les principaux caractères de *K. phalaena* sont: a) pas de frange de poils raides au bord libre de l'uropatagium; b) I¹ ayant une seule

pointe bien développée; c) taille très petite: avant-bras 27 à 30 mm, long. du crâne 11,8 à 12,1 mm.

Cette espèce est nouvelle pour le Cameroun.

Kerivoula sp.

N° 20g. Mukonje, Cameroun anglais (4° 37' N, 9° 30' E), 1905 (Rhode). ♂ en alcool, crâne extrait.

Remarques. — Ce spécimen figure sous le nom de *K. muscilla* Thom. dans mon travail de 1952 (pp. 97, 98).

Depuis quelques années, j'ai entrepris la revision des formes africaines du genre *Kerivoula* et j'ai constaté que ma première détermination était erronée. Cette Chauve-souris diffère de *muscilla* par les caractères suivants: a) I¹ bicuspidé; b) rostre plus long. Il s'agit d'une forme nouvelle dont j'ai examiné d'autres spécimens d'Afrique-Occidentale française et du Congo belge. Cette forme sera décrite dans la revision en cours.

Miniopterus majori Thomas.

Miniopterus majori Thomas, Ann. Mag. nat. Hist. (7) 17: 175, 1906. Imasindrary, Madagascar.

N° 22. Imasindrary, Madagascar, 3.7.1895 (Forsyth Major, n° 452). ♂ empaillé; squelette partiel, dont le crâne, séparé.

N° 23. « Sirabé » (= Antsirabé), Madagascar (19° 52' S, 46° 55' E), 1895 (F. Major). ♂ empaillé, pas de crâne.

Répartition générale. — Madagascar, toute l'île (DORST, 1947a).

Remarques. — Le n° 22 est un allotype. Les mesures des deux spécimens sont les suivantes: avant-bras 43 mm/45, 3^e doigt 39 + 10,5 + 35/41 + 10 + 38, 5^e doigt 34 + 9 + 8,5/35 + 9,5 + 8, crâne (n° 22), long. totale 15,6, long. condylobasale 15, long. basion-foramen des incisives 11,9, long. rang. dent. sup. I¹-M³ 7,4, C-M³ 6,1, larg. zygomatique 8,6, larg. mastoïde 8,4, larg. interorbitaire 3,9, larg. aux bords ext. de M³-M³ 6,6, larg. aux bords ext. de C-C 4,6, long. de la mandibule 12, long. rang. dent. inf. I₁-M₃ 7,8, C-M₃ 6,6.

HARRISON (1953), qui a revu les formes sud-africaines et malgaches de *Miniopterus*, maintient *majori* comme espèce distincte et le range dans le groupe *natalensis*.

Miniopterus manavi Thomas.

Miniopterus manavi Thomas, Ann. Mag. nat. Hist. (7) 17: 176, 1906.
Imasindrary, Madagascar.

N° 8. Montagne d'Ambre, Madagascar (12° 45' S, 49° 30' E)
(Dr Sicard). ♂ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — Madagascar, toute l'île (DORST, 1947a).

Remarques. — Principales mesure: avant-bras 39 mm, 3^e doigt 34 + 10 + 32, 4^e doigt 33 + 8 + 16, 5^e doigt 31 + 7,5 + 7,5, tibia 15, pied 8, queue env. 46, oreille 12×10, tragus 5,5; crâne, long. totale 14,6, long. condylobasale 14, long. basion-foramen des incisives (= basisinuale) 11, long. rang. dent. sup. I¹-M³ 6,8, C-M³ 5,7, larg. zygomatique 7,7, larg. mastoïde 7,9, larg. inter-orbitaire 3,2, larg. aux bord ext. de M³-M³ 5,6, de C-C 4,3, long. mandibule 11,1, long. rang. dent. inf. I₁-M₃, 7,2, C-M₃ 6,1.

J'éprouve quelques doutes, en rapportant ce spécimen à *manavi*. En effet, les mesures craniennes indiquées par THOMAS (1906, descr. orig.) et par HARRISON (1953) sont plus faibles. Il correspond mieux aux mesures et descriptions de *M. fraterculus*. La forme du crâne est du type *fraterculus* (HARRISON, 1953, figs. 1 B, 1 D, p. 67), c'est-à-dire que la largeur mastoïde est subégale ou supérieure à la largeur zygomatique. *M. fraterculus* est une espèce continentale qui n'a jamais été trouvée à Madagascar. Je maintiens mon identification, au moins provisoirement, en supposant que ce spécimen entre dans les limites de variation de *M. manavi*, dont on connaît peu de mesures.

Miniopterus natalensis arenarius Heller.

Miniopterus natalensis arenarius Heller, Smithson. misc. Coll. 60 (12): 2, 1912.
Guaso Nanyuki, Kenya.

N° 18. Tosamaganga, Tanganyika (7° 50' S, 35° 32' E). ♀ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — Kenya, Tanganyika, nord-est et sud du Congo belge (cf. HARRISON, 1953).

Remarques. — On trouve peu de mesures, dans la littérature, de *M. n. arenarius*. Dans la description originale de HELLER, il n'y a que quelques mesures utilisables; ALLEN et LOVERIDGE¹

¹ Proc. Boston Soc. nat. Hist. 38: 422, 1927.

n'en indiquent aussi que très peu (seulement externes). HARRISON (1953) donne des mesures détaillées de *natalensis*, sans préciser de quelle sous-espèce il s'agit. On peut toutefois supposer que les mesures de *arenarius* entrent dans les limites indiquées par HARRISON pour *natalensis*, car HOLLISTER (1918: 95) dit bien: « The form [*arenarius*] is very close to true *natalensis* . . . ».

Il ne fait pour moi plus de doutes que *M. rufus* Sanb. est un synonyme de *M. n. arenarius*. En effet, dans la description originale, SANBORN (1936) fait remarquer que chez toutes les formes africaines (y compris *natalensis*, *arenarius* et *inflatus*), à l'exception des deux qu'il décrit (*rufus* et *africanus*¹), la rang. dent. sup. C-M³ ne dépasse pas 6 mm et que la largeur mastoïde est subégale ou généralement plus grande que la largeur zygomatique. Or, j'ai déjà montré (AELLEN, 1956; PERRET et AELLEN, 1956) que chez *inflatus* typique et chez *inflatus villiersi*, la rang. dent. sup. C-M³ dépasse 6 mm et que la largeur zygomatique est plus grande que la largeur mastoïde. D'autre part, HARRISON (1953) met bien en évidence ce dernier caractère dans le dessin qu'il donne du crâne de *natalensis* (fig. 1 C, p. 67); le maximum de la rang. dent. sup. C-M³ est indiqué 6,1 mm. On voit donc que les deux espèces nouvelles de SANBORN ne sont pas les seules africaines à présenter ces deux importants caractères. Enfin, en calculant les indices craniaux d'HARRISON (1953: 71, voir notes ci-dessous) pour *rufus*, j'arrive aux résultats suivants:

	<i>rufus</i>	<i>natalensis</i> (HARRISON, 1953)
Indice maxillo-pariétal ²	1.22	1.20-1.39
» maxillo-condylobasal ³	2.37	2.28-2.57
» interparieto-condylobasal ⁴ . .	1.94	1.79-1.99

Les indices de *rufus* entrent tous dans les limites indiquées pour *natalensis*.

¹ Si *rufus* semble bien être un synonyme de *natalensis arenarius*, il n'en va pas de même de *africanus* qui serait à rapprocher de *inflatus*, comme je le supposais déjà dans mon travail de 1956 (note 1, p. 891). Ce problème n'entre pas dans les limites du présent article et je n'en discuterai pas plus avant.

² Rapport $\frac{\text{larg. de la boîte crânienne}}{\text{larg. du rostre à M}^2\text{-M}^2}$.

³ Rapport $\frac{\text{larg. du rostre à M}^2\text{-M}^2}{\text{long. condylobasale.}}$.

⁴ Rapport $\frac{\text{larg. du rostre à M}^2\text{-M}^2}{\text{larg. de la boîte crânienne}}$.

En conclusion, je ne vois pas de raisons de maintenir *rufus* comme espèce valable, d'autant plus que la plupart des mesures indiquées par SANBORN (1936) entrent dans les limites de variation de *natalensis* et que *natalensis arenarius* est signalé à proximité immédiate de la localité typique de *rufus* (cf. carte, p. 74, in HARRISON, 1953).

Le spécimen du Musée de Strasbourg présente les mesures suivantes :

	mm		mm
Avant-bras	45,5	Crâne, longueur totale . .	16,2
3 ^e doigt, métacarpe	41	Longueur condylobasale . .	15,6
» 1 ^{re} phalange	11	» basisinuale	12
» 2 ^e phalange	38	» I ¹ -M ³	7,7
4 ^e doigt, métacarpe	40	» C-M ³	6,2
» 1 ^{re} phalange	8,5	Largeur zygomatique . . .	8,9
» 2 ^e phalange	18	» mastoïde	8,7
5 ^e doigt, métacarpe	36	» boîte crânienne . . .	8,2
» 1 ^{re} phalange	9	» aux bords ext. M ³ -M ³ . .	6,8
» 2 ^e phalange	10	» du rostre, à M ² -M ² . .	6,6
Tibia	20,5	» aux bords ext. C-C . .	4,7
Pied (avec griffes)	11	» interorbitaire	4,1
Queue	60	Longueur de la mandibule .	12
		» I ₁ -M ₃	7,8
		» C-M ₃	6,6
Indice maxillo-pariétal			1.24
» maxillo-condylobasal			2.36
» interparieto-condylobasal			1.90

MOLOSSIDAE

Myopterus whitleyi (Scharff).

Mormopterus whitleyi Scharff, Ann. Mag. nat. Hist. (7) 6: 569, 1900. Bénin, Nigeria.

N° 20c. Mukonje, Cameroun anglais (4° 37' N, 9° 30' E), 1905 (Rhode). ♂ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — Gold Coast, Nigeria, Cameroun, Ouganda, sud du Congo belge.

Remarques. — Les principales mesures de ce spécimen sont données dans mon travail de 1952. Cette espèce est nouvelle pour le Cameroun.

Tadarida (Chaerephon) limbata limbata (Peters).

Dysopes limbatus Peters, Reise Mossamb. Säugeth.: 56, 1852. Ile de Mozambique, Mozambique.

N° 12a. Dar es Salam, Tanganyika, 1905 (Hürstel). ♂ en alcool, crâne extrait.

Répartition générale. — Du Kenya et de l'Ouganda au Mozambique et à Madagascar; à l'ouest jusqu'au Cameroun (?), Gabon, Moyen-Congo et Angola.

Remarques. — Si je nomme cette Chauve-souris *T. l. limbata*, c'est en partie pour des raisons biogéographiques et de priorité. Il y a, en effet, tant de divergences d'opinions quant à l'attribution spécifique des très nombreuses formes décrites dans le sous-genre *Chaerephon*, qu'il est bien difficile d'y voir clair. Même dans des travaux de revision récents, on trouve des contradictions avec des faits qui semblent acquis. Ainsi, ELLERMAN, MORRISON-SCOTT et HAYMAN (1953) distinguent deux espèces, *pumila* et *limbata*, par la coloration du patagium; chez la première il est foncé, chez la seconde pâle. Or, ces auteurs admettent comme sous-espèce de *limbata*, la forme *elphicki*, alors que son propre descripteur, ROBERTS, indique: « The wing membrane is dark brown above and below. » (ROBERTS, 1954: 98).

Dans la description originale de *Dysopes limbatus*, qui est la forme la plus anciennement décrite, PETERS n'indique malheureusement qu'une seule mesure cranienne, la long. totale (16 et 16,5 mm). Les deux *Chaerephon* du Musée de Strasbourg présentent des mesures externes à peu près semblables, alors que les crânes sont dissemblables de taille; cela me conduit à les considérer comme des formes différentes. HOLLISTER (1918: 97), donne une série de mesures de *limbata* de Zanzibar qui correspondent bien à celles du spécimen de Dar es Salam et c'est ce qui me détermine à nommer ainsi ce spécimen.

Les ailes en sont blanchâtres, translucides; le dessous du corps est blanc à partir du milieu de la poitrine. Il y a une petite touffe de poils unicolores courts et serrés, derrière la membrane qui réunit les deux oreilles sur le sommet de la tête. P² est placé dans la moitié externe de la rangée dentaire et sépare nettement C de P⁴. I₁ et I₂ sont présents. Les prémaxillaires sont soudés et le palais est percé

d'un petit trou qui s'étend, en arrière, jusqu'au niveau du milieu des canines. Pour les mesures, voir ci-dessous.

	N° 12a ♂ Dar es Salam	N° 1 ♂ Congo
	mm	mm
Avant-bras	37	37
3 ^e doigt, métacarpe	37	38
» 1 ^{re} phalange	15	16
» 2 ^e phalange	23	21,5
4 ^e doigt, métacarpe	35,5	36,5
» 1 ^{re} phalange	12	13,5
» 2 ^e phalange	12	12
5 ^e doigt, métacarpe	22	23,5
» 1 ^{re} phalange	10,5	11,5
» 2 ^e phalange	5	4
Tibia	13	12,5
Pied (avec griffes)	8	8
Queue	35	30
Oreille	17	15
Crâne:		
Longueur totale	18	15,7
» condylobasale	16,5	14,8
» I ¹ -M ³	7,8	7,2
» C-M ³	6,6	6
Largeur zygomatique	11,2	9,6
» mastoïde	10,5	9
» de la boîte crânienne	8,8	8
» interorbitaire	3,9	3,8
» aux bords ext. de C-C	4,9	4,2
» » » M ³ -M ³	7,9	6,9
Longueur de la mandibule	12,9	11
» I ₁ -M ₃	7,5	6,7
» C-M ₃	7,2	6,5

Tadarida (Chaerephon) limbata subsp.

N° 1. « Congo ». ♂ en alcool, crâne séparé.

Remarques. — Comme je le dis ci-dessus, une grande confusion règne parmi les formes du sous-genre *Chaerephon*. Les mesures de ce spécimen correspondent à *limbata (sensu stricto)* de divers auteurs, mais aussi à bien d'autres formes signalées au Congo belge, telles *chapini* J. A. Allen et *cristata* J. A. Allen¹. Je préfère ne pas

¹ Dans la description originale de ces deux formes, il est dit qu'il n'y a qu'une seule paire d'incisives inférieures; on sait que le nombre de ces dents (1 ou 2 paires) est un caractère variable dans le sous-genre *Chaerephon*.

le nommer subspécifiquement et me contenter d'en indiquer sommairement les principaux caractères et les mesures. Les ailes sont blanchâtres, translucides; la poitrine est foncée, seul le ventre est clair. La touffe de poils derrière la membrane connective des oreilles est présente et mesure 4 mm; elle est unicolore. P² est placé dans la moitié externe de la rangée dentaire et sépare nettement C de P⁴. I₁ et I₂ sont présents. Les prémaxillaires sont soudés et le palais est percé de deux petits trous qui s'étendent, en arrière, jusqu'au niveau du bord antérieur des canines.

Tadarida sp.

N° 20c. Mukonje, Cameroun anglais, 1905 (Rhode). ♀ juv. en alcool, crâne inclus.

Il s'agit d'un jeune spécimen présentant encore ses dents de lait.

RÉFÉRENCES

- AELLEN, V. 1952. *Contribution à l'étude des Chiroptères du Cameroun*. Mém. Soc. Neuchâtel. Sci. nat. 8: 1-121.
- 1956. *Speologica africana. Chiroptères des grottes de Guinée*. Bull. Inst. Fr. Afr. Noire A 18: 884-894.
- 1957. *Chiroptères. In: Le Parc National du Niokolo-Koba*. Mém. Inst. Fr. Afr. Noire 48: 23-34.
- ALLEN, G. M. 1939. *A Checklist of African Mammals*. Bull. Mus. comp. Zool. Harvard 83: 1-763.
- et A. LOVERIDGE. 1933. *Reports on the Scientific Results of an Expedition to the Southwestern Highlands of Tanganyika Territory. II. Mammals*. Bull. Mus. comp. Zool. Harvard 75: 47-144.
- ANDERSEN, K. 1905. *Further Descriptions of new Rhinolophi from Africa*. Ann. Mag. nat. Hist. (7) 15: 70-76.
- 1906. *On Hipposiderus caffer, Sund., and its closest Allies; with some Notes on H. fuliginosus, Temm.* Ann. Mag. nat. Hist. (7) 17: 269-283.
- 1907. *Chiropteran Notes*. Ann. Mus. Stor. nat. Genova (3) 3: 5-45.
- 1912. *Catalogue of the Chiroptera in the collection of the British Museum*, 2^e edit. I: *Megachiroptera*. London: CI + 854.
- BEAUX, O. DE. 1922. *Mammiferi abissini e somali*. Atti Soc. ital. Sci. nat. Milano 61: 21-34.
- 1924. *Mammiferi della Somalia Italiana*. Atti Soc. ligust. Sci. Lett. Genova 3: 149-168.

- DOBSON, G. E. 1878. *Catalogue of the Chiroptera in the collection of the British Museum*. London: XLII + 567.
- DORST, J. 1947a. *Les Chauves-souris de la Faune malgache*. Bull. Mus. Hist. nat. Paris (2) 19: 306-313.
- 1947b. *Essai d'une clef de détermination des Chauves-souris malgaches*. Mém. Inst. Sci. Madagascar A 1: 81-88.
- 1948. *Les chiroptères du genre Triaenops Dobson (Hipposidérinés)*. Mammalia 12: 15-21.
- ELLERMAN, J. R. et T. C. S. MORRISON-SCOTT. 1951. *Checklist of Palae-arctic and Indian Mammals 1758 to 1946*. London: 1-810.
- T. C. S. MORRISON-SCOTT et R. W. HAYMAN. 1953. *Southern African Mammals 1758 to 1951: a reclassification*. London: 1-363.
- HARRISON, D. L. 1953. *Some systematic notes on the long-fingered bats of the genus Miniopterus Bonaparte occurring in south Africa and Madagascar*. Durban Mus. Novit. 4 (5): 65-75.
- HAYMAN, R. W. 1954. *Notes on some African Bats, mainly from the Belgian Congo*. Rev. Zool. Bot. afr. 50: 277-295.
- HOLLISTER, N. 1918. *East African Mammals in the United States National Museum. Part I. Insectivora, Chiroptera, and Carnivora*. Bull. U. S. nat. Mus. 99: 1-185.
- KUZYAKIN, A. P. 1950. *Letuczie Myszi*. Moskva: 1-443. (Chiroptères de l'U.R.S.S.).
- MOREAU, R. E. et R. H. W. PAKENHAM. 1941. *The land vertebrates of Pemba, Zanzibar and Mafia; a zoo-geographical study*. Proc. zool. Soc. London 110: 97-128.
- PERRET, J. L. et V. AELLEN. 1956. *Mammifères du Cameroun de la collection J. L. Perret*. Rev. suisse Zool. 63: 395-450.
- ROBERTS, A. 1954. *The Mammals of South Africa*, 2^e edit.: XLVIII + 701.
- SANBORN, C. C. 1936. *Descriptions and records of African Bats*. Zool. Ser. Field Mus. Chicago 20: 107-114.
- SWYNNERTON, G. H. et R. W. HAYMAN. 1951. *A Checklist of the Land Mammals of the Tanganyika Territory and the Zanzibar Protectorate*. J. E. Afr. nat. Hist. Soc. 20: 274-392.
- TATE, G. H. H. 1942. *Results of the Archbold Expeditions. No. 47. Review of the Vespertilionine Bats, with special attention to genera and species of the Archbold collections*. Bull. Amer. Mus. nat. Hist. 80: 221-297.
- THOMAS, O. et R. C. WROUGHTON. 1908. *The Rudd Exploration of S. Africa. X. List of Mammals collected by Mr. Grant near Tette, Zambesia*. Proc. zool. Soc. London: 535-553.
-

Note sur les *Gammarus* de Suisse

par

H. B. N. HYNES

(Université de Liverpool, Angleterre)

Pendant les excursions du premier Symposium sur les Plécop-
tères qui s'est tenu à Lausanne en septembre 1956, j'ai eu
l'occasion de capturer trois espèces de Crevettes d'eau douce. On
ne trouve que très peu de renseignements sur les *Gammarus* de
Suisse et il semble que les biologistes de ce pays ne se soient pas
beaucoup préoccupés de ces crustacés. Il me paraît donc utile de
publier cette petite note dans l'espoir d'attirer l'attention des
naturalistes suisses sur un groupe intéressant et mal connu dans
leur pays.

Quoiqu'il n'y ait pas un grand nombre d'espèces de *Gammarus*
dans les eaux douces d'Europe, celles qui y existent sont très
intéressantes au point de vue de la distribution géographique,
de l'histoire de la faune aquatique depuis la glaciation du Pléis-
tocène (THIENEMANN 1952) et de la compétition interspécifique
(HYNES 1955). Or, la Suisse occupe, pour ces considérations, une
région assez importante.

Les espèces que j'ai trouvées sont :

Gammarus pulex pulex L, dans un bassin artificiel à l'Isle
(Vaud), dans la Venoge à Cuarnens (Vaud) et dans le lac Brenet
(Jura vaudois).

Gammarus pulex fossarum Koch pullulait dans les sources de
l'Orbe, près de Vallorbe (Vaud). Dans cette localité, je n'ai trouvé
qu'un seul exemplaire de *G. pulex pulex*.

Gammarus lacustris Sars, au lac Lioson (Préalpes vaudoises),
petit lac calcaire de montagne à 1850 m.

Je crois que ces trois formes de *Gammarus* n'ont pas été signalées en Suisse. On sait qu'elles se trouvent en France (PACAUD 1952) et en Allemagne (SCHELLENBERG 1942). On pourrait encore trouver deux autres espèces en Suisse: *G. ræseli* Gervais qui habite les rivières de plaine à courant lent en France, Allemagne et Autriche et *G. pungens* Milne-Edwards, espèce de petits ruisseaux et sources, qui habite l'Italie et le sud de la France. Il se peut aussi que *G. berilloni* Catta soit découvert une fois en Suisse. Cette espèce d'origine occidentale, s'étend peu à peu vers l'est. Elle a déjà traversé la France et envahit actuellement le nord de l'Allemagne (THIENEMANN 1950).

Gammarus lacustris est une espèce entièrement lacustre qui se trouve partout dans le nord de l'Europe et en Amérique du Nord. En Europe centrale, on l'a trouvée seulement dans des endroits isolés et toujours à haute altitude. On l'a capturé par exemple dans le lac de Darbon en Haute Savoie (DUSSART 1948); jusqu'ici on ne l'a pas signalé en Suisse où il est probablement assez répandu.

G. pulex pulex est une espèce de rivière et de ruisseaux de basse altitude; plus haut il est remplacé dans les ruisselets et les sources par *G. pulex fossarum* qui habite toujours des eaux froides. On voit ici d'une manière évidente une compétition entre les deux formes: en Angleterre, où *p. fossarum* n'existe pas, *p. pulex* s'élève en altitude jusqu'aux sources. Il me semble donc probable que la température joue un rôle essentiel: quand il fait toujours froid, c'est *p. fossarum* qui l'emporte, mais quand il existe des températures élevées en été et à basse altitude, c'est *p. pulex*. Toutefois ce problème demande à être encore étudié et la Suisse offre de nombreux biotopes favorables à une telle recherche.

J'ai observé moi-même un cas intéressant. Généralement, on trouve, comme je l'ai déjà dit, *p. fossarum* au-dessus de *p. pulex* dans la même vallée, mais dans l'Orbe, il y a une inversion très significative. Le lac des Brenets à 1000 m. contient la même eau qui sort de la résurgence de l'Orbe à 717 m., mais le lac ne contient que des *p. pulex* et la plupart des Gammares des sources sont des *p. fossarum*. Il est probable que la température de l'eau du lac varie beaucoup plus que celle de l'eau des sources. En coulant à travers les roches entre les deux localités, l'eau du lac se refroidit en été et se réchauffe en hiver. Le seul *p. pulex* que j'ai trouvé dans les

sources, un mâle âgé, doit avoir été un représentant d'une population habitant plus bas dans l'Orbe, qui aurait remonté le courant ou au contraire un représentant de la population du lac qui aurait été entraîné au travers des rochers.

AUTEURS CITÉS

- DUSSART, B. 1948. *Sur la présence en Haute-Savoie de Gammarus (Rivulogammarus) lacustris* Sars. C. R. Som. Soc. Biogéographie, 219: 101-103.
- HYNES, H. B. N. 1955. *The reproductive cycle of some British freshwater Gammaridae*. J. anim. Ecol., 24: 352-87.
- PACAUD, A. 1952. *Nouvelle revue de la distribution géographique des Gammarus dans les eaux continentales françaises*. C. R. Som. Soc. Biogéogr. 252: 19-111.
- SHELLENBERG, A. 1942. *Flohkrebse oder Amphipoda*. Tierwelt Deutschlands Jena, 40: 4.
- THIENEMANN, A. 1950. *Verbreitungsgeschichte der Süßwassertierwelt Europas*. Die Binnengewässer 18. Stuttgart.
-

590.5444

(60)

Tome 64

Fascicule 2 (N° 8 à 23)

Juin 1957

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN

Conservateur des arthropodes

et

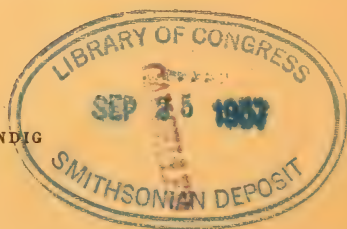
EUGÈNE BINDER

Conservateur des invertébrés

*Ce fascicule renferme les travaux présentés à l'Assemblée
générale de la Société suisse de Zoologie tenue à Genève,
les 13 et 14 avril 1957.*

GENÈVE

IMPRIMERIE ALBERT KUNDIG
1957



REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

Tome 64. En cours de publication.

	Pages
N° 1. Hans MATTER. Die formale Genese einer vererbten Wirbelsäulenmissbildung am Beispiel der Mutante Crooked-tail der Maus	1
N° 2. Robert MATTHEY. Cytologie comparée, systématique et phylogénie des <i>Microtinae</i> (<i>Rodentia-Muridae</i>). Avec 49 figures dans le texte)	39
N° 3. Jean-Luc PERRET et Robert MERTENS. Revision du matériel herpétologique du Cameroun, étudié par A. Monard	73
N° 4. Jean-Luc PERRET. Découverte de la femelle de <i>Chamaeleo quadricornis</i> Tornier et note sur les Caméléons du Cameroun. Avec 2 figures dans le texte	79
N° 5. Nelly BUCHER. Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Keimzellen und somatischen Zellen im Ovar von <i>Drosophila melanogaster</i> . Mit 34 Textabbildungen und 4 Tabellen	91
N° 6. V. AELLEN. Les Chiroptères africains du Musée zoologique de Strasbourg	189
N° 7. H. B. N. HYNES. Note sur les <i>Gammarus</i> de Suisse	215
N° 8. E. MAYR. Die denkmöglichen Formen der Artentstehung . .	219
N° 9. U. RAHM. Wichtige Faktoren bei der Attraktion von Stechmücken durch den Menschen	236
N° 10. H. BURLA und A. KÄLIN. Biometrischer Vergleich zweier Populationen von <i>Drosophila obscura</i>	246
N° 11. H. WOKER und K. WUHRMANN. Die Reaktion der Bachfauna auf Gewässervergiftungen	253
N° 12. Hans WACKERNAGEL. Versuch einer zeitgemässen Zootierernährung	263
N° 13. Anne M. DU BOIS. Altérations provoquées chez le fœtus de cobaye par l'injection d'alloxane à la femelle gravide . .	268
N° 14. D. ROSENBUSCH-WEIHS et K. PONSE. Actions rapides et lointaines de l'hypophysectomie chez le cobaye	271
N° 15. O. LIBERT, R. DOVAZ et M. M. PERRET. Les métabolites de la progestérone (GBS) dans le cycle normal et après hypophysectomie chez le Cobaye	281

(Voir suite page 3 de la couverture)

Prix de l'abonnement :

Suisse Fr. 60.—

Union postale Fr. 65.—

(en francs suisses)

Les demandes d'abonnement doivent être adressées à la rédaction de la *Revue Suisse de Zoologie*, Muséum d'Histoire naturelle, Genève

MITGETEILT AN DER GENERALVERSAMMLUNG DER SCHWEIZERISCHEN
ZOOLOGISCHEN GESELLSCHAFT IN GENÈVE DEN 13. UND 14. APRIL 1957

COMMUNICATIONS FAITES À L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE DE LA
SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE, TENUE À GENÈVE LES 13 ET 14 AVRIL 1957

Mitteilungen die in einer anderen Zeitschrift veröffentlicht werden:

Communications qui seront publiées dans une autre revue:

O. Wagner, Basel. — Spermatogenes und Ovogenese bei *Ornithodoros moubata*. (wird in Acta Tropica 14, 3. sept. 1957, veröffentlicht)

A. Aeschlimann, Bâle. — Développement embryonnaire d'*Ornithodoros moubata*. (sera publié in Acta Tropica. 14, 4. déc. 1957.)

F. Engelmann & Luscher, Bern. — Hemmung der Eireifung durch Prothoraxdrüsen bei *Leucophaea* (*Orthoptera*). (wird in J. Insect Physiol. veröffentlicht)

Nº 8. **E. Mayr**, Cambridge, Mass. — Die denkmöglichen Formen der Artentstehung.

Die Erklärung der beinahe unendlichen Mannigfaltigkeit der Natur ist eines der schwierigsten Evolutionsprobleme. Wir sind davon überzeugt, dass die Millionen der Tier- und Pflanzenarten von gemeinsamen Vorfahren abstammen und doch scheint gerade die scharfe Abgrenzung der Arten gegeneinander im Widerspruch mit dem Grundgedanken der langsamen Evolution zu sein. In der Tat ist die Frage nach der Vervielfältigung der Arten, nach dem Aufsplintern der Arten, eines der ältesten und schärfst umkämpften Evolutionsprobleme. Eine mehr oder minder zufriedenstellende Lösung ist merkwürdigerweise erst in den letzten 25 Jahren allgemein angenommen worden.

Wie so oft in der Geschichte der Wissenschaft so war auch hier eine Begriffsverwirrung das Haupthemmnis. Es ist ein bekanntes Paradox in der Geschichte der Evolutionsforschung, dass DARWIN sein Hauptwerk „Über die Entstehung der Arten“ betitelte, sich in diesem Werk aber fast ausschliesslich mit den Allgemeinproblemen der Evolution beschäftigte. Die Lösung des Problems der Artenstehung, der Aufteilung einer Art in mehrere, hat DARWIN durchaus nicht gefördert. Das hatte zwei Gründe. Einerseits musste sich DARWIN mit allen Mitteln bemühen, den Evolutionsgedanken seinen Lesern schmackhaft zu machen. Bewusst oder unbewusst stellte er daher die Abgrenzung der Arten voneinander so unscharf dar wie nur möglich. Wenn man, wie DARWIN das tat, behauptet, dass Arten und Varietäten fließend ineinander übergehen und dass ihre Abgrenzung etwas rein subjektives ist, dann hat man das Problem der Artentstehung quasi aus dem Wege geschafft. Es

würde zu weit führen, hier im einzelnen auf alle Schwächen in DARWIN's Beweisführung einzugehen. Einige seien jedoch erwähnt. Der doppeldeutige Gebrauch des Wortes Varietät, sowohl für individuelle Varianten wie für geographische Rassen, war einer seiner Irrtümer, ein anderer sein Versäumnis, die Art als Population zu definieren.

Ebenso schwerwiegend ist die Tatsache, dass sich bei DARWIN und bei vielen andern Autoren zwei recht verschiedene biologische Erscheinungen unter dem Wort Artentstehung verbergen, nämlich einerseits jede stammesgeschichtliche Abänderung einer Entwicklungsreihe und anderseits die Aufteilung einer einheitlichen Entwicklungsreihe in mehrere, die eigentliche Vervielfältigung (Vermehrung) der Arten. Wenn wir heute von „Speciation“ oder Artentstehung reden, dann meinen wir diese „Multiplication of species“, diese Artvervielfältigung. Die Doppeldeutigkeit des Ausdrucks Artentstehung war DARWIN keineswegs klar, im Gegenteil dachte er, das Problem der Vervielfältigung wäre gelöst, sobald das Problem der stammesgeschichtlichen Änderung an sich bewiesen wäre. Eine kurze Überlegung zeigt aber, dass dies keineswegs der Fall ist.

Es ist aber nicht genug mit dieser einen Begriffsklärung. Wir müssen noch einige weitere Punkte klar stellen, ehe wir die verschiedenen Lösungen im einzelnen besprechen können, die für das Problem der Artentstehung vorgeschlagen worden sind. Zu allererst müssen wir uns darüber einigen, was wir unter dem Wort *Art* verstehen. Wenn wir, mit PLATO, die Art als einen Eidos betrachten, dann ist Artentstehung einfach das Erzeugen eines neuen *Eidos* oder, wie wir in der Biologie sagen, eines neuen morphologischen Typs. Die Systematiker haben durch bittere Erfahrung gelernt, dass eine solch rein typologisch-morphologische Artauffassung der natürlichen Situation keineswegs gerecht wird. Wollte man eine solche Artauffassung verteidigen, dann müsste man alle Farb- und Formvarianten als verschiedene Arten betrachten. Dann würden selbst Geschlechts- und Altersunterschiede zu Artcharakteren. Die Synonymen-Listen der Systematiker beweisen, wie irreführend solch eine rein morphologische Artauffassung ist. Die Artentstehungs-Hypothesen eines DE VRIES und seiner Zeitgenossen sind gescheitert, weil sie von dieser irreführenden morphologischen Artdefinition ausgingen.

Die Studien der letzten hundert Jahre haben eindeutig erwiesen, dass natürliche Arten nicht nur im allgemeinen morphologisch verschieden sind, sondern noch zwei weitere ausserordentlich wichtige biologische Eigenschaften besitzen:

1. Jede Art ist eine Fortpflanzungsgemeinschaft, die durch eine Fortpflanzungsschranke von allen andern Arten getrennt ist.

2. Jede Art ist eine natürliche Population. Darunter verstehen wir nicht nur die Tatsache, dass die zu einer Population gehörigen Individuen miteinander fortpflanzungsfähig sind, sondern auch dass jedes Individuum einer Art normalerweise genetisch einzigartig ist. Mit Ausnahme eineiiger Zwillinge sind alle Individuen geschlechtlich sich fortpflanzender Arten genetisch voneinander verschieden. Man kann also eine Art nicht mehr typologisch charakterisieren, sondern nur noch statistisch, durch Mittelwerte, Variationsbreiten, Genhäufigkeiten, und dergleichen.

Eine klare biologische Charakterisierung der Art ist eine unerlässliche Voraussetzung für eine erfolgreiche Besprechung des Vorganges der Artentstehung. Es ist nun klar, dass unter den vielen denkmöglichen Artentstehungsprozessen nur diejenigen eine Wirklichkeitsaussicht haben, die erstens zur Entstehung einer neuen Population führen und zweitens eine wirksame Fortpflanzungsschranke gewährleisten. An dieser doppelten Klippe sind schon viele Artentstehungstheorien gescheitert, wie z.B. die Mutations-theorie von DE VRIES und ähnliche Theorien der ursprünglichen Mendelianer. Wenn die einfache Tatsache eines genetischen Unterschiedes genügen würde um eine neue Art zu erzeugen, dann wäre jeder Zuhörer dieses Vortrages der Vertreter einer anderen Art.

Verschiedene Versuche sind schon gemacht worden, ein logisches System für die verschiedenen Möglichkeiten der Artentstehung zu finden. HUXLEY (1942) unterschied geographische, ökologische und genetische Artbildung. Diese Kriterien überdecken sich aber leider, denn jede geographische Artentstehung, z.B., ist gleichzeitig auch genetisch und ökologisch; alle ökologische Artbildung ist gleichzeitig auch räumlich und genetisch. Auch SEWALL WRIGHT's (1949) wesentlich detailliertere Einteilung in 10 Möglichkeiten der Artentstehung scheint mir nicht den wirklich grundlegenden Faktoren gerecht zu werden. Vielleicht ist es in der Tat noch zu früh, ein umfassendes System aufzustellen, denn wir wissen ja bis jetzt

noch so gut wie nichts über Artbildung bei den niederen Wirbellosen. Das was wir wissen, passt jedoch so gut zu den an den Wirbeltieren gemachten Befunden, dass ein allgemeines System vielleicht doch schon gewagt werden kann.

TAB. 1: *Die denkmöglichen Formen der Artentstehung*

A. STAMMESGESCHICHTLICHE ARTABÄNDERUNG

- 1..... (a) Autogene Änderung (durch Mutation, Selektion, usw.)
- 2..... (b) Allogene Änderung (durch Genaustausch mit anderen Arten, Verbastardierung)

3..... B. VERSCHMELZUNG ZWEIER ARTEN

C. ECHTE ARTVERVIELFÄLTIGUNG

I. *Sofortige Artvervielfältigung (durch Individuen)*

(a) genetisch

- 4..... 1. Mutation in asexueller „Art“
- 5..... 2. Systemische Mutation (Goldschmidt)
- (b) cytologisch
- 6..... 1. Chromosomenmutation (Translokation usw.)
- 7..... 2. Autopolyploidie
- 8..... 3. Allopolyploidie

II. *Allmähliche Artvervielfältigung (durch Populationen)*

- 9..... (a) Sympatrische Artbildung
- 10..... (b) Semigeographische Artbildung
- (c) Geographische Artbildung
- 11..... 1. Isolierung einer Kolonie, die während der Isolierung Isolationsmechanismen erwirbt.
- 12..... 2. Aussterben der Zwischenglieder in einer Populationskette, deren Endpopulationen bereits reproduktiv isoliert sind.

Meine eigene Einteilung beruht auf drei Hauptkriterien.

(1) Ob nur eine stammesgeschichtliche Artänderung vorliegt oder eine wirkliche Artvermehrung;

(2) Ob die Artvermehrung plötzlich stattfindet oder allmählich ist;

(3) Ob die Artvermehrung mit oder ohne geographische Trennung stattfindet.

Unter Berücksichtigung einiger weiterer, weniger wichtiger Unterkategorien kommen wir zu einem System mit 12 denkbaren Artentstehungsmöglichkeiten (Tab. 1).

Diese 12 denkmöglichen Formen der Artentstehung wollen wir nun in grossen Zügen besprechen und die Wahrscheinlichkeit ihres Vorkommens untersuchen.

Stammesgeschichtliche Artabänderung

Die allmähliche evolutionäre Änderung beinahe aller Arten im Laufe der geologischen Geschichte ist so wohl bekannt, dass man darüber kein Wort mehr zu verlieren braucht. Aber immer wieder muss betont werden, dass das keineswegs zu einer Artvermehrung führt. Solch eine stammesgeschichtliche Transformation ist keineswegs „speciation“ im modernen Sinne dieses Wortes und ist hier nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

Verschmelzung zweier Arten

Dieser Vorgang, der genau das Gegenteil von Artvermehrung ist, ist eigentlich ein logischer Widerspruch. Nach der modernen Artdefinition sind Arten reproduktiv isoliert. Wie können dann zwei so definierte Arten ineinander aufgehen? Nur dann, wenn die Isolations-Mechanismen plötzlich versagen, und das scheint vor allem bei ökologischen Isolationsmechanismen gelegentlich vorzukommen. Allerdings kommt man in Schwierigkeiten, wenn man nach konkreten Fällen sucht. Die meisten, die in der Literatur aufgezählt werden, sind eigentlich Verbastardierungszonen zwischen wohldifferenzierten Subspezies, die in der Literatur fälschlich als Arten angeführt werden.

Ein potentiell interessanter Fall ist derjenige der *Drosophila americana*, die Patterson als Hybridisationsprodukt von *D. novamexicana* und *D. texana* ansieht. Er wurde zu dieser Hypothese durch die geographische Verbreitung der Genanordnungen dieser 3 Arten geführt (Fig. 1).

Es zeigt sich aber, dass die chromosomale Variation von *D. americana* nicht gleichmässig verteilt ist, wie das in einem Hybridisationsprodukt zu erwarten wäre. Vielmehr stimmen die westlichen *americana* mit *novamexicana* und die östlichen *americana* mit *texana* überein. Offensichtlich war also die geographische Variation von *americana* das primäre, und durch geographische Artbildung ist im Westen *novamexicana* und im Südosten *texana* entstanden.

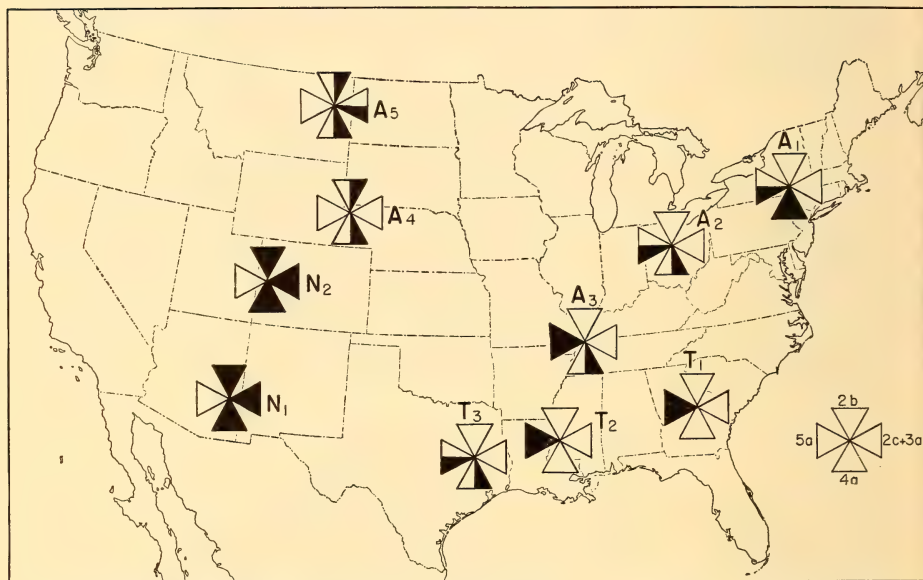


FIG. 1.

Verbreitung diagnostischer Genanordnungen bei *Drosophila americana* (A₁-A₅), *D. texana* (T₁-T₃), und *D. novamexicana* (N₁-N₂). Vorhandensein der Inversionen 2b, 2c und 3a, 4a, und 5a durch gefüllte Kreuzarme, Fehlen dieser Inversionen durch leere Kreuzarme angedeutet. Ein halbgefüllter Arm bezeichnet Polymorphismus für die betreffende Inversion. Jedes Kreuz summiert den Chromosomenbestand einiger verwandter und benachbarter Populationen (Nach Hsu 1952).

Im allgemeinen kann man sagen, dass die Verschmelzung zweier Arten zu einer einzigen im Tierreich ausserordentlich selten zu sein scheint. In der Tat ist mir nicht ein einziger einwandfrei bewiesener Fall bekannt.

Sofortige Artentstehung durch Mutation

Sofortige Artbildung kann man definieren als „die Erzeugung eines einzelnen Individuums, das reproduktiv von der Elternart isoliert ist und reproduktiv sowohl wie ökologisch fähig ist, eine neue Artpopulation (Fortpflanzungsgemeinschaft) zu begründen“.

Das plötzliche Erscheinen eines neuen Typs, der nicht mehr zur Fortpflanzungsgemeinschaft der Eltern gehört, wurde von früheren Autoren als eine weitverbreitete und beinahe selbstverständliche Möglichkeit angesehen. Nach DE VRIES entstehen neue Arten durch solche Mutationen, aber wir wissen jetzt, dass sich DE VRIES und seine Zeitgenossen darin getäuscht haben. Mutationen sind durchaus keine seltenen Ereignisse, sondern in einem höheren Organismus mit 50.000 oder mehr Loci könnte es leicht sein, dass beinahe jedes Individuum mindestens eine neue Mutation trägt. Solch ein Mutieren erhöht dauernd die Genvariabilität der Population, führt aber keineswegs zu einer Teilung der Mutterart in mehrere Tochterarten. Die Hypothese der Artentstehung durch Mutation ignoriert beide Grundbedingungen der Artentstehung: Fortpflanzungsisolation und Populationsneugründung.

Dennoch gibt es einen Sonderfall, bei dem man die Möglichkeit mutativer, sofortiger Artentstehung erwägen muss, nämlich bei sich asexuell fortpflanzenden Organismen. Hier steht man aber leider vor einem terminologischen Dilemma. Da die asexuelle Art keine Fortpflanzungsgemeinschaft ist, muss man sie morphologisch charakterisieren; da aber eine einzige Mutation eine morphologische Änderung hervorrufen kann, kann eine solche Mutation tatsächlich eine neue „Art“ erzeugen, nur ist solch eine Art nicht gleichwertig mit einer neuen Fortpflanzungsgemeinschaft, wie man sie in sich geschlechtlich fortpflanzenden Organismen findet. Solche Mutanten als Arten anzuerkennen, ist auch vom rein praktischen Standpunkt des Systematikers selten empfehlenswert. Es erleichtert die Übersicht, sie einstweilen als Formen, Varianten, Stämme oder Linien in Kollektiv- oder Gross-Arten zusammenzufassen.

Zusammenfassend kann man also sagen, dass Mutationen als solche nicht im Stande sind, neue Arten zu produzieren. Damit soll aber nicht bezweifelt werden, dass bei der Ausbildung von Isolationsmechanismen gewisse Mutationen wichtiger sind als

andere. Das gilt vor allem für diejenigen, die zur Kreuzungssterilität beitragen. Ein wirksamer Isolationsmechanismus kann aber nur aus Komplementärfaktoren aufgebaut werden. Das einfachste Schema ist $aabb \xrightarrow{AAbb} aaBB$, und selbst dafür braucht man geographische Isolierung. Mutationen sind also bei der Artvermehrung wichtig, können sie aber nicht allein bewirken.

Chromosomen-Mutationen

In den Jugendjahren der Cytogenetik war die Ansicht weit verbreitet, dass Artentstehung mit drastischen karyologischen Veränderungen Hand in Hand ginge. Diese Hypothese beruht auf der richtigen Beobachtung, dass nahe verwandte Arten sich häufig nicht nur in der Zahl der Chromosomen, sondern auch in der Genanordnung durch Inversionen, Translokationen, Duplikationen usw. unterscheiden. Aber auch hier beging man den Fehler, typologisch zu denken. Wie WHITE (1954, p. 379) richtig betont, darf man auch hier nicht vergessen, dass Arten Populationen sind und dass alle Neuheiten nur allmählich in den Genbestand einer Population eingebaut werden können: „In order to lead to permanent changes in the caryotype, structural changes have to be capable of surviving in the heterozygous condition for a certain period of time without lowering either the viability or the fertility of individuals to any considerable extent. If these conditions are not fulfilled, a rearrangement will be eliminated by natural selection, no matter how beneficial it might be in the homozygous state, before it has reached a frequency sufficient to give rise to homozygotes“.

Damit ist allerdings noch nicht erklärt, wie sich eine neue Translokation in einer Population durchsetzen kann, in Anbetracht der starken Herabsetzung der Lebensfähigkeit in der teilweise heterozygoten Übergangspopulation. SEWALL WRIGHT (1941) errechnete, dass hierfür die Wahrscheinlichkeit ansteigt, wenn die Populationsgrösse abnimmt. SPURWAY (1953) sah darin in der Tat die Erklärung für die Translokationen bei der italienischen Rasse *carnifex* von *Triturus cristatus*: „A colonization of Italy from the north consisted of crossing hundreds of barriers, some small and some large, and each would have first been effectively crossed by a single sperm-carrying female. Her descendants

would then spread out into a new area, and perhaps twenty or a hundred years later some of them would cross the next barrier. At each such barrier there would be the chance demonstrated by WRIGHT (1940, 1941) for a translocation or an inversion to establish itself. Doubtless other newts with the old chromosome arrangement would follow in the wake of the first colonists. But if a translocation had established itself in the homozygous state beyond the barrier, the old gene order would be in a minority and would be wiped out by natural selection. The populations thus separated would be those most likely not to be swamped by subsequent gene flow and retain a recognizable identity". Es ist wichtig zu beachten, dass diese Chromosomen-Mutationen nicht einen eigenen Artentstehungsprozess darstellen, sondern dass sie nur eine Komponente der geographischen Variation sind. Geeignete Chromosomenmutationen können jedoch die zur Artentstehung nötige Zeitdauer der Isolierung wesentlich verkürzen.

Polyploidie

Die einzige einwandfrei nachgewiesene Form der sofortigen Artbildung ist die Polyploidie, eine Vervielfältigung der normalen Chromosomenzahl. Es ist allgemein bekannt, dass Polyploidie im Pflanzenreich weit verbreitet ist. Ob Polyploidie im Tierreich (d.h. bei sich geschlechtlich fortpflanzenden Tieren) überhaupt vorkommt, wird anscheinend noch heute von solchen Autoritäten wie WHITE und MATTHEY bezweifelt. Bestenfalls ist Polyploidie eine sehr seltene Erscheinung. Am wahrscheinlichsten sind Fälle bei Schmetterlingen (*Lycaena bellargus*, $n = 45$, *L. coridon*, $n = 90$; *Erebia tyndanus*, $n = 8$, *E. ottomana* = 40) (LORKOVIC 1949), bei Euphyllopoden (GOLDSCHMIDT 1953 *b*), bei verschiedenen Orthopteren (GOLDSCHMIDT 1953 *a*), und bei Fischen. Häufiger kommt Polyploidie bei parthenogenetischen Tieren der verschiedensten Gruppen vor. Wenn eine Art nach der Polyploidisierung wieder zur zweigeschlechtlichen Fortpflanzung zurückkehrt, wie dies z.B. gelegentlich anscheinend bei Regenwürmern vorkommt, dann kann man das getrost als Artentstehung auf dem Weg der Polyploidie anführen.

Sich parthenogenetisch fortpflanzende Polyploide sind für den Systematiker ein heikles Problem. Morphologisch sind sie oft

kaum von der diploiden Elternart zu unterscheiden und werden deshalb oft als Rassen beschrieben. Tatsächlich gehören sie aber gar nicht zur elterlichen Fortpflanzungsgemeinschaft und sind deshalb, biologisch gesehen, richtiger als Arten zu betrachten.

Mit der Polyploidie haben wir die letzte der denkmöglichen Formen sofortiger Artentstehung besprochen. Wir kommen nun zu den verschiedenen möglichen Formen der allmählichen Artentstehung.

Allmähliche Artentstehung

Die verschiedenen Theorien der allmählichen Artentstehung gehen davon aus, dass normalerweise eine Art durch den genetischen Umbau einer Population entsteht und dass das nur allmählich und normalerweise ziemlich langsam vor sich gehen kann. Innerhalb des Rahmens, der durch diese allgemeine Annahme festgelegt ist, sind aber verschiedene Möglichkeiten vorhanden, die nun der Reihe nach besprochen werden müssen.

Sympatrische Artentstehung

Die, man möchte sagen, naive Theorie der allmählichen Artbildung ist die der sympatrischen oder sogenannten „ökologischen“ Artentstehung. Sie beruht auf der Annahme, dass sich gewisse Individuen innerhalb einer Population ökologisch spezialisieren, sich dann in der neuen ökologischen Nische zu einer neuen Population umgestalten und schliesslich zu einer neuen Fortpflanzungsgemeinschaft werden. Solch ein Vorgang erscheint auf den ersten Blick durchaus plausibel und wird deshalb mit der Regelmässigkeit einer Uhr fast jährlich von irgendeinem Autor postuliert, ja DARWIN selbst war ein Anhänger dieser Hypothese. Aber seit beinahe 100 Jahren ist sie immer wieder mit durchschlagenden Beweisen entkräftigt worden, wie z.B. von M. WAGNER (1884), SEEBOHM (1888), WALLACE (1889) und K. JORDAN (1896, 1897, 1903), um einige der früheren Autoren zu nennen, oder von MAYR (1947) und PITELKA in der neueren Literatur.

Es würde zu weit führen, die Beweisgründe für und gegen nichtgeographische Artentstehung im einzelnen zu zitieren. Immerhin müssen einige Gesichtspunkte hier erörtert werden.

Arten im Anfangsstadium.

Bei jeder Form der allmählichen Artentstehung muss man einen hohen Prozentsatz von „werdenden Arten“ finden, das heisst Populationen, die bereits einige Eigenschaften von Arten haben aber noch nicht alle. Geographische Rassen und geographische Isolate sind solche „incipient species“ im Verlauf der geographischen Artentstehung. Ökologisch-biologische Rassen sind als das entsprechende Gegenstück für die sympatrische Artentstehung angeführt worden. Das hat sich aber als Begriffsverwirrung herausgestellt, denn es handelt sich bei den ökologisch-biologischen Rassen der Literatur um zwei recht verschiedene biologische Erscheinungen. Echte ökologische Rassen sind weiter nichts als geographische Rassen, deren Phänotypus besonders stark die Anpassung an die ortseigentümlichen Bedingungen widerspiegelt. Solche ökologische Rassen haben aber dieselben Eigenschaften wie alle andern geographischen Rassen und benötigen, wie sie, geographische Isolierung zur Vollendung der Artwerdung. Andere sogenannte biologische Rassen, die besonders häufig als „werdende Arten“ in einem sympatrischen Artbildungsvorgang angeführt werden, haben sich als echte Zwillingsarten (*espèces jumelles*, CUÉNOT) entpuppt. Hierher gehören die sogenannten biologischen Rassen der Malaria-Mücke *Anopheles maculipennis*, viele Artengruppen in der Gattung *Drosophila* und in der Tat fast alle Fälle, die in der entomologischen und parasitologischen Literatur als biologische Rassen beschrieben worden sind. Die übliche Definition der biologischen Rasse als „eine morphologische nicht oder kaum sich unterscheidbare Population, die sich aber nicht mit der Stammart kreuzt“ deutet darauf hin, dass der ganze Begriff der biologischen Rasse weiter nichts als ein Artefakt eines morphologischen Artbegriffs ist. Im Rahmen einer biologischen Artaufassung spielt ja der Grad der morphologischen Verschiedenheit gar keine Rolle. Eine ausführliche Übersicht über das Problem der biologischen Rassen und Zwillingsarten wird an anderer Stelle gegeben werden (MAYR MS.).

Einen Sonderfall stellen die Wirtsrassen der Insekten dar, die sich auf bestimmte Pflanzenwirte spezialisieren. Eine sorgfältige Analyse der bisher veröffentlichten Fälle deutet darauf hin, dass sich auch solche Wirtsrassen nicht ohne geographische Isolierung

zu Arten umbilden können. Immerhin findet man hier Situationen, die einer weiteren Analyse bedürfen. Drei Punkte darf man hierbei nicht übersehen: 1) Wirtsspezifische Arten haben die normale genetische Variation aller sich geschlechtlich fortpflanzender Arten und besitzen meistens Genotypen, die unter günstigen Umständen auch auf anderen Wirtsarten leben können. 2) Eine nicht-genetische Anpassung, „conditioning“, an einen neuen Wirt ist im Allgemeinen nur eine teilweise „Geschmacksverschiebung“, keineswegs eine „Alles oder Nichts“-Erscheinung, und ist ausserdem rückgängig. Solch ein „conditioning“ unterbindet keineswegs einen Gen-Austausch zwischen den beiden Wirtsrassen. 3) Während der Ausbreitungsphase, die im Lebenszyklus einer jeden Art vorkommt, findet ein Genaustausch zwischen den werdenden Rassen statt, mindestens durch die Männchen, selbst dann, wenn die Weibchen sich nicht von der Wirtspflanze entfernen. Diese und andere Schwierigkeiten machen eine Artentstehung auf dem Wege von sympatrischen Wirtsrassen höchst unwahrscheinlich.

Ökologische oder biologische Rassen sind also durchaus keine „werdenden Arten“ (incipient species). Entweder handelt es sich um Zwillingsarten, die bereits Voll-Arten sind ohne sich jedoch morphologisch geändert zu haben, oder es handelt sich um räumlich getrennte Rassen, die sich, genetisch gesprochen, in nichts von anderen geographischen Rassen unterscheiden. Sie sind also auf keinen Fall eine Stütze für die Hypothese einer sympatrischen Artbildung.

Die Anhänger der sympatrischen Artbildung haben zum Teil ihre Hypothesen auf Voraussetzungen gestützt, die sich nicht bestätigt haben: *a)* dass die phänotypisch oder genetisch ähnlichsten Individuen einer Population sich bei der Fortpflanzung vorziehen (Homogamie) (siehe MAYR 1947); *b)* dass eine Vorliebe für eine ökologische Spezialsituation innerhalb des Biotops verknüpft sei mit einer Auswahl von Paarungspartnern mit derselben ökologischen Spezialisierung; *c)* dass Individuen solche Biotope oder ökologische Nischen auswählen, für die sie genotypisch präadaptiert sind; und *d)* dass es gewisse Evolutionerscheinungen gibt, wie z.B. die Artenschwärme der Gammariden im Baikalsee und die der Cichliden im Tanganyika-See, die nur durch sympatrische Artentstehung erklärt werden können. (Siehe aber RENSCH 1933, BROOKS 1950). Keine dieser Annahmen stimmt.

Es kann gezeigt werden, dass all die verschiedenen Beweisgründe, die für die Hypothese der sympatrischen Artentstehung angeführt worden sind, nicht stichhaltig sind. Man kann aber noch weiter gehen und nachweisen, dass diese Hypothese grössere Schwierigkeiten hervorruft, als sie zu beseitigen glaubt. Eine Artentstehungshypothese hat nur dann einen Wahrscheinlichkeitswert, wenn sie den Schwierigkeiten gerecht wird, die durch die Gendurchmischung während der Ausbreitungsphase und durch den Faktorenaustausch während der geschlechtlichen Fortpflanzung verursacht werden. Das kann aber die Hypothese der sympatrischen Artentstehung nicht, da sie vergisst, dass die Population und nicht das Individuum der Baustein der Artbildung ist.

Geographische Artbildung

Dass eine geographische Absonderung eine notwendige Vorbedingung der Artbildung ist, fühlten schon LEOPOLD VON BUCH (1825) und andere Vorläufer. Moritz WAGNER (1868) war jedoch der eigentliche Vater der Theorie der geographischen Artentstehung, deren Allgemeingültigkeit dann vor allem von Karl JORDAN (1896, 1905, siehe auch MAYR 1956) erwiesen wurde. Die Beweise für diese Theorie sind so überwältigend (RENSCH 1933, MAYR 1942) dass die Zahl der Zweifler (z.B. GOLDSCHMIDT 1940) immer kleiner geworden ist. Merkwürdigerweise ist es jedoch erst in den letzten paar Jahren vollkommen klar geworden, warum geographische Isolierung für die Artentstehung so unentbehrlich ist. Um das zu verstehen musste man über die atomistische Genetik hinwegkommen, die nicht nur jedes Gen als einen unabhängigen Wirkungskreis betrachtete, sondern auch dazu neigte, jedes Merkmal als das Produkt eines spezifischen Gens anzusehen.

Die moderne Genetik hat, man möchte sagen, eine viel holistischere oder funktionellere Einstellung. Ein Merkmal ist das Produkt des gesamten Genkomplexes, und die verschiedenen Erbfaktoren müssen harmonisch bei der Entwicklung eines Charakters zusammenwirken. Lebensfähigkeit und Selektionstüchtigkeit eines Individuums hängen also davon ab, wie gut die verschiedenen Gene aufeinander eingespielt sind. Günstige Kombinationen werden durch Auslese erhalten, ungünstige eliminiert. Die Wertigkeit eines Gens ist also nicht etwas absolutes, sondern

sie hängt davon ab, wie gut das Gen nicht nur in seine äussere, sondern auch in seine genetische Umwelt hineinpasst. Die Gene, die zusammen das Gen-Reservoir einer Population oder einer Art ausmachen, sind wie es DOBZHANSKY ausgedrückt hat, das Produkt einer Ko-adaptation. Und damit wird plötzlich die Rolle der geographischen Isolierung klar: der harmonische Umbau eines Genkomplexes kann nur dann ungestört vor sich gehen, wenn er nicht dauernd durch die Masseneinwanderung fremder Gene gestört wird, und dazu ist räumliche Isolierung nötig (MAYR 1954). Die geographische Isolierung ist also etwas ganz anderes als die genetischen Isolationsmechanismen. Es wäre vollkommen falsch zu sagen, Arten können entweder durch geographische Isolierung oder durch den Ursprung von Isolationsmechanismen entstehen. Solch eine Alternative ist Unsinn. Arten können sich nur erhalten, wenn sie genetische Isolationsmechanismen haben. Die Unentbehrlichkeit der geographischen Isolation besteht darin, dass sie den harmonischen genetischen Umbau ermöglicht, der für die Entstehung der neuen arteigenen Isolationsmechanismen nötig ist.

Eine grosse geographische Schranke ist nun nicht immer nötig (Nr. 11). Wie SEWALL WRIGHT (1943) und andere nachgewiesen haben, ist der Genaustausch zwischen Nachbarpopulationen einer Art oft genügend abgebremst, so dass weitentfernte Populationen einer Art Genkombinationen haben, die sich wie Isolationsmechanismen zueinander verhalten. Fälle wie der von *Drosophila pallidipennis*, wo die südamerikanische Rasse (*pallidipennis*) und die mexikanische Rasse (*centralis*) unfruchtbar miteinander sind, sind gar nicht selten. In einem solchen Falle brauchen nur die Zwischenpopulationen auszusterben, und schon hat man zwei getrennte Fortpflanzungsgemeinschaften, d.h. zwei Arten (Nr. 12).

Die Frage wird manchmal aufgeworfen, ob Artbildung stattfinden kann, wenn zwei Populationen, die ökologisch recht verschieden sind, in einer Grenzzone ineinander übergehen (Semi-geographische Artentstehung) (Schema Nr. 10). Kann der Selektionsdruck in den beiden Nachbargebieten die zwei Populationen immer weiter auseinander treiben, bis schliesslich die bisher einheitliche Art entlang der Grenzzone auseinanderreiss? Alle uns bekannten Tatsachen sprechen gegen eine solche Möglichkeit. Wir kennen hunderte von Fällen, wo lange isolierte Populationen wie z.B. Ra-

ben- und Nebelkrähen (*Corvus corone* und *cornix*) in einer solchen Grenzzone sekundär zusammenkamen und trotz der Schmalheit der Bastardzone (die für eine Gegenauslese gegen die Bastarde spricht) in mindestens 3000-4000 Jahren auf dem Wege zur Artwerdung keineswegs weiter gekommen sind. Die Beständigkeit solcher Bastardzonen hat verschiedene Gründe. In manchen Fällen besteht eine Spezialanpassung der Bastarde auf die Grenzzone, was die Brücke festigt. In anderen Fällen wird der Effekt der Gegenauslese durch die dauernde Introgression von Nachbargenen über die Grenzzone hinweg kompensiert. Selbst wo die ökologischen Verhältnisse auf beiden Seiten der Grenzzone ziemlich verschieden sind, können sich hier anscheinend Isolationsmechanismen nicht entwickeln. Die Wahrscheinlichkeit für das gelegentliche Vorkommen semigeographischer Artentstehung erscheint äusserst gering.

Man darf den Ausdruck „geographische Trennung“ nicht zu wörtlich nehmen. „Räumliche Trennung“ wäre vielleicht ein genauerer Fachausdruck, denn das einzige worauf es ankommt, ist die Ungestörtheit des abgetrennten Genreservoirs. Bei Parasiten z.B. wird der Genfluss unter Umständen dann abgeschnitten, wenn ein Parasit eine Kolonie auf einem neuen Wirt gründet. Solch eine räumliche Trennung ist biologisch der geographischen Trennung in freilebenden Arten völlig gleichwertig.

Ich möchte hier besonders hervorheben, dass sich bei hermaphroditisch, parthenogenetisch oder sonst aberrant fortpflanzenden Tieren allerlei interessante Erscheinungen finden, die noch nicht völlig geklärt sind und auch solange nicht gedeutet werden können, bis die Systematik dieser Formen geklärt ist. Dies gilt vor allem für Nematoden, Rotatorien und Cladocera. Die Wichtigkeit einer gesunden und regen Systematik für die Lösung biologischer Fragen muss immer wieder betont werden. Aus dem gleichen Grund können wir bisher auch nichts über Artbildung bei allen sich teilweise vegetativ fortpflanzenden Gruppen sagen, wie z.B. den Schwämmen, Cölenteraten (Hydrozoen) und Bryozoen. Da sich alle diese Formen, so weit ich weiss, auch geschlechtlich fortpflanzen, dürften sie eine normale Populationsstruktur haben und infolgedessen auch eine normale Artentstehung.

Vielleicht sollte ich hier noch GOLDSCHMIDT's „systemic mutations“ erwähnen, diese hypothetischen Grossmutationen,

die mit einem Schritte nicht nur neue Arten sondern selbst Gattungen, Familien und Grosskategorien hervorrufen sollen (GOLDSCHMIDT 1940). GOLDSCHMIDT's rein typologische Hypothese vergisst völlig, dass solche Monstrositäten (wie GOLDSCHMIDT sie selber nennt) entweder in die Elternpopulation hineinpassen müssen oder fähig sein müssen, sofort eine neue lebensfähige Fortpflanzungsgemeinschaft zu gründen. Die Wahrscheinlichkeit, dass sie damit Erfolg haben, ist so astronomisch minimal, dass solche Monstrositäten in enormsten Mengen erzeugt werden müssten, damit dann oder wann eine erfolgreich ist. Die Tatsachen widersprechen dieser Annahme ganz und gar. GOLDSCHMIDT's Hypothese ist so entscheidend von allen führenden Evolutionsforschern widerlegt worden, dass sich alle weitere Diskussion erübrigt.

Ich hoffe, dass diese kurzen Ausführungen dazu beigetragen haben, den Fragenkomplex der Artentstehung etwas zu klären. Artbildung ist kein m o r p h o l o g i s c h e s Problem, auch nicht ein g e n e t i s c h e s Problem im Sinne der Mutationisten. Man kann das Problem der Artentstehung nur dann lösen, wenn man die b i o l o g i s c h e Bedeutung der Art versteht. Eine Art ist eine isolierte Fortpflanzungsgemeinschaft, und Artentstehung ist deshalb die genetische Verfestigung einer neuen Fortpflanzungsgemeinschaft. Zahllose Hypothesen, wie dies vor sich gehen könnte, sind aufgestellt worden, die sich in ein Schema von 12 denkmöglichen Methoden einreihen lassen. In Wirklichkeit kommen jedoch nur Polyploidie und geographische Artbildung in Frage, im Tierreich beinahe ausschliesslich die letztere.

LITERATUR

- BROOKS, John Langdon. 1950. *Speciation in ancient lakes*. Quart. Review Biol. 25 (1): 30-60; (2): 131-176.
- DARWIN, Charles. 1859. *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favored races in the struggle for life*. John Murray, London.
- DOBZHANSKY, Theodosius. 1951. *Genetics and the origin of species*. Columbia Univ. Press, New York.

- GOLDSCHMIDT, Elisabeth. 1953a. *Multiple sex-chromosome mechanisms and polyploidy in animals*. Journ. Genetics, 51 (2): 434-440.
- 1953b. *Chromosome numbers and sex mechanism in Euphyllipods*. Experientia 9 (2): 65-66.
- GOLDSCHMIDT, Richard. 1940. *The Material basis of evolution*. Yale Univ. Press, New Haven.
- HSU, T. C. 1952. *Chromosomal variation and evolution in the virilis group of Drosophila*. Univ. Texas Publ. 5204: 35-72.
- HUXLEY, Julian. 1942. *Evolution, the modern synthesis*. George Allen and Unwin Ltd., London.
- JORDAN, Karl. 1896. *On mechanical selection and other problems*. Novit. Zool. 3: 426-525.
- 1905. *Der Gegensatz zwischen geographischer und nichtgeographischer Variation*. Z. wiss. Zool. 83: 151-210.
- LORKOVIC, Z. 1949. *Chromosomen-Vervielfachung bei Schmetterlingen und ein neuer Fall fünffacher Zahl*. Rev. suisse Zool. 56: 243-249.
- MAYR, Ernst. 1942. *Systematics and the origin of species*. Columbia Univ. Press, New York.
- 1947. *Ecological factors in speciation*. Evol. 1: 263-288.
- 1954. *Change of genetic environment and evolution. Evolution as a process*. Edit. J. Huxley, A. C. Hardy, and E. B. Ford. George Allen and Unwin Ltd., London.
- 1956. *Karl Jordan's contribution to current concepts in systematics and evolution*. Trans. Royal Entom. Soc. London, Jordan Volume: 45-66.
- PATTERSON, J. T. 1952. *Revision of the montana complex of the virilis species group*. Univ. Texas Publ. 5204: 20-34.
- and W. S. STONE. 1952. *Evolution in the genus Drosophila*. Macmillan Co., New York.
- RENSCH, B. 1933. *Zool. Systematik und Artbildungsproblem*. Verh. Dtsch. Zool. Ges., 1933: 19-83.
- SPURWAY, H. 1953. *Genetics of specific and subspecific differences in European newts*. Symposia of the Soc. Exp. Biol. 7, Evolution. pp. 200-237.
- WHITE, M. J. D. 1954. *Animal Cytology and Evolution*. Cambridge Univ. Press.
- WRIGHT, Sewall. 1940. *Breeding structure of populations in relation to speciation*. Amer. Nat. 74: 232-248.
- 1941. *On the probability of fixation of reciprocal translocations*. Amer. Nat. 75: 515-522.
- 1943. *Isolation by distance*. Genetics, 28: 114-138.
- 1949. *Population structure in evolution*. Proc. Amer. Phil. Soc. 93: 471-478.
-

Nº 9. **U. Rahm**, Basel. — Wichtige Faktoren bei der Attraktion von Stechmücken durch den Menschen.

Die Erkenntnis, dass verschiedenste Stechmückenarten als Krankheitsüberträger eine Rolle spielen, intensivierte die Untersuchungen über die Lebensweise und das Verhalten dieser Insekten. Einerseits versuchte man die Mücken zu eliminieren, andererseits trachtete man danach, Mensch und Tier vor diesen Überträgern zu schützen. Bei der Suche nach Repellentsubstanzen dienten die Mücken vor allem als Testobjekt und nicht als Versuchstier selbst. Erst in den letzten Jahren sind einige Arbeiten erschienen, die sich speziell der Frage des Attraktionsmechanismus widmen. Wir haben uns im Schweizerischen Tropeninstitut im Zusammenhang mit Malariauntersuchungen die Aufgabe gestellt, diesem Problem nachzugehen. In einer ersten Publikation (RAHM 1956) untersuchten wir die Attraktivität verschiedener Personen auf *Aedes aegypti* L. und kamen zum Schluss, dass wahrscheinlich Duftstoffe, neben anderen Faktoren, die wesentliche Rolle spielen.

Fasst man die bis jetzt für Mücken als attraktiv bekannten Faktoren zusammen, so kann man sie in 3 Gruppen einteilen:

1. *optische Faktoren*: Grösse, Farbe, Bewegung;
2. *physikalische Faktoren*: Wärme, Feuchtigkeit, Oberflächenbeschaffenheit;
3. *chemische Faktoren*: CO₂, Schweiss, Duftstoffe (vom Körper abgegebene Produkte und chemische Substanzen).

Es versteht sich, dass die Mücken, damit sie überhaupt auf solche Stimuli reagieren, physiologisch dazu bereit sein müssen, denn sie sprechen nicht immer und nicht unter allen Umständen darauf an. Die Aktivitätsperiode, der Hungerzustand und atmosphärische Bedingungen sind hierbei unter anderem ausschlaggebend. In den Tabellen 1-4 sind die wichtigsten Ergebnisse aus der Literatur summarisch dargestellt, was Farben, Wärme, Feuchtigkeit, CO₂, Schweiss und Duftstoffe als attraktive Faktoren anbetrifft.

TABELLE 1. *Farben.*

Autor	Jahr	Mückenart	Versuchsanordnung	Resultat
BRETT	1938	<i>Aedes aegypt.</i>	Im Vergleich zu: 1. weiss 2. schwarz	1. rot, schwarz, braun, khaki, grün, blau, gelb, weiss. 2. schwarz, rot, braun, grau, weiss, blau, khaki, grün, gelb.
BROWN	1952	<i>Aedes-Arten</i>	Feldvers. mit Robot	schwarz > weiss, rot > grün, rot = blau. Dunkle Töne > helle Töne derselben Farbe.
BROWN	1954	<i>Aedes punctator</i>	Feldvers. mit Robot mit farbigen Kleidern und Stoffen	schwarz, rot, blau, braun, grün, weiss, gelb.
GAULLIN	1947	<i>Aedes lateralis dorsalis</i> " <i>hexodont.</i> " <i>communis</i> " <i>aborigin.</i>	Feldvers., Mensch mit farbigen Kleidern } gemischt	schwarz, blau, rot, braun, grün, gelb. schwarz, blau, rot, grün, braun, gelb. schwarz, rot, braun, blau, grün, gelb.
HOWLETT	1910	<i>Aedes scutell.</i>	Laborbeobachtung	schwarz und dunkle Farben > helle Farben.
SMART und BROWN	1956	<i>Aedes aegypt.</i>	Laborversuch an Menschen	Neger-Hand > Orientalen-Hand > Europäer-Hand.
BRIGHTI	1930	<i>Anoph. macul.</i>	Feldver. mit farbigen Abteilen in Schweinestall	rot, violett, gelb, weiss, grün, blau.
KO	1925	<i>Anoph. sp.</i> <i>Aedes, Culex</i>	Farbtücher an Decke " " "	gelb, weiss, dunkelrot, grün > blau, purpur, rot, schwarz, umgekehrt als bei Anopheles.
NUTTALL	1901	<i>Anophel. sp.</i>	Gazebzelt mit Mücken und Farbschachteln	blau, rot, braun, scharlach, schwarz, grau, grün, violett, hellgrün, hellblau, ocker, weiss, orange, gelb.
HOWLETT	1910	<i>Culex fatig.</i>	Laborbeobachtung	schwarz und dunkle Farben > helle Farben.

TABELLE 2. *Wärme, Feuchtigkeit.*

Autor	Jahr	Mückenart	Vers. anordn.	Wärme	Feuchtigkeit
BROWN	1951	<i>Aedes aeg.</i>	Feldvers.		bei Lufttemp. von 16° C + bei niederen Temp. —
BROWN	1952	<i>Aedes</i>	Feldvers. m. Robot	3 × besser als Kälte	bei 16—18° C $2\frac{2}{3} \times$ besser bei 9—13° C $\frac{1}{2} \times$ besser als trocken.
BROWN und al.	1951	<i>Aedes aeg.</i>	Labor	Warmluft bei 80—90 % rLF besser als bei 15—20 %	feuchte Luft 3—5 × > trockene feuchte Billardkugeln 7 × besser als trockene.
CHRISTOPHERS	1947	<i>Aedes aeg.</i>	Laborvers.	Warme Platte bei 25° C und 90 % rLF attraktiv Wärme und	bei 25° C und 90 % rLF negat. Feuchtigkeit zus. attrakt.
DE LONG	1945	<i>Aedes aeg.</i>	Laborvers.	warme Platte leicht + Warmluftstrom —	Platte und feucht attr. feucht + wenn rLF unter 95 %
HOWLETT	1910	<i>Aedes scut.</i>	Laborvers.	gut attraktiv	
PARKER	1948	<i>Aedes aeg.</i>	Laborvers.	nicht attr.	bei 28° C u. 50—70 % rLF + starke Attr. und Aktivität
PARKER	1952	<i>Aedes aeg.</i>	Laborvers.	bei 25° C u. 90 % rLF +	bei 28° C u. 55 % rLF +
PETERSON und BROWN	1951	<i>Aedes aeg.</i>	Laborvers.	Convectionheat + Radiationheat —	
LAARMAN	1955	<i>Anoph. mac.</i>	Laborvers.	absitzen u. stechen	absitzen d. Mücken.
MARCHAND	1918	<i>Anoph.</i>	Laborvers.	attr., stechen	
REUTER	1936	<i>Anopheles Aedes</i>	Laborvers. Stallvers.	Attr. „basic stimulus“ warm u. feucht besser als Wärme allein.	keine Attr.
VAN THIEL	1937	<i>Anoph. mac.</i>	Laborvers.	Wärme und Feuchtigkeit zus. attr.	
VAN THIEL und LAARMAN	1954	<i>Anoph. mac.</i>	Laborvers.	attr. in Nähe Wärme und Feuchtigkeit zus. attr.	

+ = attraktiv;

— = nicht attraktiv;

> = besser als.

TABELLE 3. *Kohlendioryd*.

Autor	Jahr	Mückenart	Versuchsanordnung	Resultat
BROWN	1951	<i>Aedes</i>	Feldvers. m. Robot	feuchtes Tuch mit CO ₂ = feuchtes Tuch. Luft und CO ₂ > Luft allein 100 % CO ₂ > Luft allein.
BROWN et al.	1952	<i>Aedes</i>	Laborversuch mit Olfaktometer u. CO ₂	10 % CO ₂ > trockene Luft 10 % feucht = feuchte Luft 100 % feucht < feuchte Luft.
REEVES	1953	<i>Aedes nigrom.</i>	Feldvers. m. Fallen	2500 ml/Min. > 250 ml/Min. > 25 ml/Min.
RUDOLFS	1922	<i>Aedes sollic.</i> <i>Aedes cantal.</i>	Labor-u. Feldvers.	wirkt aktivierend, auch mit NH ₄ OH zus.
THOMPSON und BROWN	1955	<i>Aedes aeg.</i>	Laborvers.	schweiss ohne CO ₂ = Schweiss mit CO ₂ wasser mit CO ₂ = Wasser stoff mit CO ₂ gesättigtem Wasser attr.
WILLIS und ROTH	1952	<i>Aedes aeg.</i>	Laborver. in grossem Käfig. rLF 50 %	10 % CO ₂ in trockenem Luftstrom 3—4 × besser. 10 % „ in feuchtem „ 4—8 × „
WILLIS	1947	<i>Aedes u. Anoph.</i>	Laborvers.	1 %, 10 %, 50 % CO ₂ : attraktiv.
WILLIS	1947	<i>Aedes u. Anoph.</i>	Laborvers. m. CO ₂ -Strom in versch. Konzentr.	nicht attraktiv, schwache Konz. aktivierend. Hohe Dosen repellent ?
LAARMAN	1955	<i>Anoph. mac.</i>	Laborvers.	wirkt aktivierend.
VAN THIEL und LAARMAN	1953	<i>Anoph. mac.</i>	Laborvers.	0,25 — 10 % iger CO ₂ -Strom ist attrakt.
VAN THIEL und WEURMAN	1947	<i>Anoph. mac.</i>	Feldvers.	CO ₂ in Verbind. mit Blut/Feuchtigk./Wärme ist attraktiv.
VAN THIEL	1937	<i>Anoph. mac.</i>	Laborvers.	CO ₂ in Verbind. mit Feuchtigk./Wärme attr.
VAN THIEL	1947	<i>Anoph. mac.</i>	Laborvers.	CO ₂ in Konzentr. bis 10 % ist attraktiv.
CRUMB	1922	<i>Culex pip.</i>	Laborvers.	in versch. Konz. nicht attrakt.
REEVES	1953	<i>Culex tars.</i> <i>Culex quinquefasc.</i>	Feldvers.	2500, 250, 25 ml/Min. attr. am besten 2500. 25 ml/Min. < 250 ml/Min. < 2500 ml/Min.

TABELLE 4. *Schweiss, Duft, chem. Stoffe.*

Autor	Jahr	Mückenart	Vers. anordn.	Schweiss	Duft u. chemische Stoffe
BROWN	1952	<i>Aedes aeg.</i>	Feldvers.	attr.	Gasolin u. Diäthyläther +
BROWN und al.	1952	<i>Aedes aeg.</i>	Laborvers.	von Achselhöhle in: 60 ccm H ₂ O + 6 " " " 600 " " " (+)	Milchsäure, Ammoniak, Äthylalk., Äthylbutyrat: repellent.
DE LONG	1945	<i>Aedes</i>	Laborvers.	attr.	Milchsäure, Methylkarpat, Natriumakrylat, Hybutyrin: — Duft von Arm attr.
HOWLETT	1910	<i>Aedes, Culex</i>	Laborvers.	bei Zimtemp —	
PARKER	1948	<i>Aedes aeg.</i>	Laborvers.	attr. in H ₂ O	
RUDOLFS	1922	<i>Aedes cant.</i> <i>Aedes soltic.</i>	Laborvers.	nicht attr.	warme Zuckerlös., Phenylalanin, Ammoniaklös., Benzoesäure, Haemoglobin, Vaseline, Pepton: attr. Talg, Blut: nicht attr.
THOMPSON und BROWN	1955	<i>Aedes aeg.</i>	Laborvers.	Achselchw. verd. 31 u. 3,1 × attr.	
WILLIS	1947	<i>Aedes aeg.</i> <i>Anoph. quadr.</i>	Laborvers.		Geruch v. Arm u. Hand mit feuchter Luft zus.: attr.
BROWN	1951	<i>Anoph.</i>	Feldvers., Robot	attr.	
HADDOW	1942	<i>Anoph. gamb.</i> <i>Anoph. funest.</i>	Feldvers.		ungewaschenes Kind > sauberes, schmutzige Kleider > gereinigte.
LAARMAN	1955	<i>Anoph. mac.</i>	Laborvers.		duft von Arm: attr.
MER und al.	1947	<i>Anoph. eldus</i>	Laborvers.		Atemluft: attr. Luftstrom über Körper: attr.
REUTER	1936	<i>Anoph. mac.</i> <i>Aedes</i>	Laborvers.	nicht attr.	Blut, Faeces: attr. Skatol, Indol, Schweissäuren: —
VAN THIEL	1937	<i>Anoph. mac.</i>	Laborvers.		Blut: nicht attr.
SCHÆRFENBERG und al.	1951	<i>Culex</i>	Labor		Fliegenpapier mit Blut > ohne Blutduftstoff: attr.

Für die Farben steht fest, dass in der Regel dunkle Farben attraktiver wirken als helle. — Bei der Wärme und Feuchtigkeit lockt die Kombination dieser beiden Faktoren viel besser die Mücken an, als Wärme oder Feuchtigkeit allein. Auch wir stellten fest (RAHM 1956), dass in Wahlversuchen Wärme + Feuchtigkeit unvergleichlich viel mehr *Aedes*-Weibchen anlockt, als nur Wärme allein. Wärme oder Feuchtigkeit allein getestet, ergaben bei manchen Autoren sich widersprechende Ergebnisse und es scheint, dass hier die Umweltsbedingungen eine grosse Rolle spielen. — Beim CO_2 ist wesentlich, in welcher Konzentration und unter welchen Bedingungen (z. B. in Labor- oder Feldversuchen) es den Mücken dargeboten wird. Einige Autoren glauben beim CO_2 eher an eine aktivierende als an eine attrahierende Wirkung. — Von den vielen untersuchten chemischen Verbindungen haben sich nur einige als attraktiv erwiesen, doch leiten sich von diesen nur wenige von Stoffen ab, die vom Menschen oder Tier abgegeben werden. Die meisten aus dem Schweiss isolierten Produkte wirken nicht attraktiv. Über den Effekt des Schweisses selbst liegen nur wenige, z. T. sich widersprechende Resultate vor. Die von der menschlichen Haut abgegebenen Duftstoffe üben auf die Mücken eine attraktive Wirkung aus. Dass ein sich in Bewegung befindliches Lebewesen oder Objekt auf Mücken anziehend wirkt, wissen wir aus den Versuchen von KENNEDY (1948) und SIPPELL u. BROWN (1952).

Versuche: Wir untersuchten im Zusammenhang mit unseren Tests auch die attraktive Wirkung von Feuchtigkeit und Wärme allein. Die Versuche wurden einerseits im Labor bei 40—50% rLF und 26° C, andererseits in einem klimatisierten Raum bei 80—90% rLF und 26° C ausgeführt. Wir machten folgende Tests im Käfig Typ I für Einzelversuche: Unter den beiden erwähnten Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen wurde eine 35° C warme, trockene Flasche und eine solche von Zimmertemperatur, bedeckt mit einem feuchten Lappen, in je 10 Versuchen getestet. Der Anflug und das Absitzen der *Aedes*-Weibchen wurde nach der bereits früher beschriebenen Methode ausgezählt. Das Resultat je einer warmen und einer feuchten Flasche, die unmittelbar nacheinander getestet wurden, addierten wir und rechneten die Werte in Prozente um. In Abb. 1 sind die Ergebnisse graphisch aufgetragen. Bei 40—50% rLF und 26° C ist die Feuchtigkeit

eindeutig attraktiver als die Wärme. Die „Anflugzahlen“ hingegen waren über der Wärme meist höher als über der Feuchtigkeit (in der Abb. nicht dargestellt). Im Durchschnitt wurden pro Versuch bei 10 Zählungen in 10 Minuten total 33 „Anflüge“ bei der Wärme,

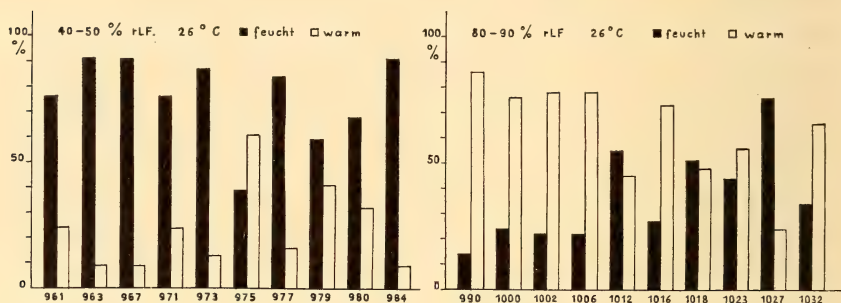


ABB. 1.

Attraktion der Wärme und Feuchtigkeit unter zwei verschiedenen Umweltbedingungen.

18 „Anflüge“ bei der Feuchtigkeit notiert. Bei 80—90% rLF und 26° C landeten meist mehr Mücken auf der warmen Flasche als auf der feuchten, doch waren hier die Unterschiede oft nicht signifikant und die Mücken verhielten sich je nach Versuchstag etwas unterschiedlich. Aus der graphischen Darstellung rechts geht hervor, dass an manchen Tagen die Wärme attraktiver war, an anderen Tagen Wärme und Feuchtigkeit ungefähr gleich anlockten und dass an einem Tage mehr Mücken auf der feuchten Flasche landeten. Waren die Mücken gut aktiv und flogen ohne stimuliert zu werden im Käfig umher, so wurden diejenigen, welche nahe zur feuchten Stelle gelangten, angelockt und blieben dann dort sitzen, meist ohne Stechbewegungen auszuführen. Waren die Mücken weniger aktiv und sassen vorwiegend an den Käfigwänden, hatte die feuchte Flasche praktisch keine attraktive Wirkung, d. h. die Feuchtigkeit besitzt keine Fernattraktion. Die Wärme hingegen aktivierte die Mücken sehr stark und wirkte auch attraktiv, besonders in den ersten Versuchsminuten. Meist war gegen Versuchsende ein Wegfliegen der Mücken zu beobachten. Berechnet man die Durchschnittszahl aus allen Versuchen (80—90% rLF und

26° C) der pro Zählung attrahierten Mücken für feucht und warm, so ergibt sich folgendes Bild:

Zählung:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
feucht:	4,3	4,8	4,5	5,1	5	4,5	4,6	4,5	4	4,8
warm	8,9	9,9	9,4	8,2	7,6	6,9	6	5,4	5,2	5,2

Daraus geht hervor, dass die Zahl der durch die Feuchtigkeit angelockten Tiere relativ konstant bleibt, dass hingegen bei der Wärme die Anzahl gegen Versuchsende abnimmt, da die Tiere wegfliegen.

Versuche mit den von der menschlichen Haut abgegebenen Duftstoffen haben gezeigt, dass diese in Kombination mit Wärme und Feuchtigkeit ebenso attraktiv sind, wie eine menschliche Hand selbst. Von der Hand gewonnener Schweiß, getestet auf einer warm/feuchten Flasche, erhöht deren Attraktion im Durchschnitt um das Doppelte. Diese Resultate werden in einer anderen Publikation ausführlich beschrieben werden (RAHM 1957). Abb. 2 fasst die Resultate von 4 verschiedenen Versuchspersonen zusammen. Der Prozentsatz der attrahierten Mücken ist angegeben für: H = menschliche Hand, D = feucht/warme Flasche + Duftstoffe, die von der Haut abgegeben werden, F = feucht/warme Flasche, S = feucht/warme Flasche + Schweiß. Nach unseren Ergebnissen spielen diese Duftstoffe eine Hauptrolle bei der Attraktion der Aedes-Weibchen.

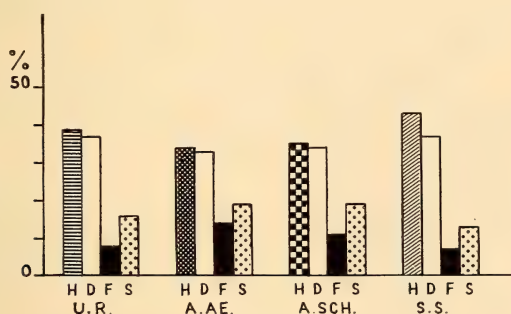


ABB. 2.

Duftstoff- und Schweißversuche an vier Personen
(Erklärung siehe Text).

LITERATURVERZEICHNIS

- BRETT, G. A. 1938. *On the relative attractiveness to Aedes aegypti of certain coloured cloths*. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 32: 113-124.
- BRIGHENTI, D. 1930. *Ricerche sulla attrazione esercitata dai colori sugli anofeli*. Riv. Malariol. 9: 224.
- BROWN, A. W. A. 1951. *Studies of the responses of the female Aedes mosquito. Part IV. Field experiments on Canadian species*. Bull. Entom. Res. 42: 575-582.
- 1954. *Studies of the responses of the female Aedes mosquito. Part VI. The attractiveness of coloured cloths to Canadian species*. Bull. Entom. Res. 45: 67-78.
- 1956. *Factors which attracts mosquitoes to humans*. 10. Int. Congr. Entom. Montreal.
- D. S. SARKARIA and R. P. THOMPSON. 1951. *Studies on the responses of female Aedes mosquito. Part I. The search for attractant vapours*. Bull. Entom. Res. 42: 105-114.
- CHRISTOPHERS, S. R. 1947. *Mosquito repellents; being a report of the work of the Mosquito Repellent Inquiry, Cambridge, 1943-45*. J. Hyg. 45: 176-231.
- CRUMB, S. E. 1922. *A Mosquito Attractant*. Science, 55, No. 1423.
- DE LONG, D. M., R. H. DAVIDSON, R. L. PEFFLY and C. E. VENARD. 1945. *A study of the action of insects repellents in terms of their effects on insect behaviour and in relation to their properties*. Nat. Res. Council, Insect Control Committee, Washington, Rep. 176.
- GJULLIN, C. M. 1947. *Effect of clothing color on the rate of attack of Aedes mosquitoes*. J. Econ. Entom. 40: 326-327.
- HADDOW, A. J. 1954. *Studies of the biting-habits of African mosquitoes*. Bull. Entom. Res. 45: 199-242.
- HOWLETT, F. M. 1910. *The influence of temperature upon the biting of mosquitoes*. Parasitology 3: 479-484.
- KO, R. 1925. *On the colour-preferences of mosquitoes*. Jour. Formosan Med. Soc. No 244, Taihoku (Anstr. in Rev. Appl. Ent. 13).
- LAARMAN, J. J. 1955. *The host-seeking behaviour of the malaria mosquito Anopheles macul. atrop.* Acta Leidensia 25: 1-144.
- MARCHAND, W. 1918. *First account of a thermotropism in Anopheles punctipennis with bionomic observations*. Psyche, 25: 130-135.
- MER, G. D. BIRNBAUM and A. AIOUB. 1947. *The attraction of mosquitoes by human beings*. Parasit. 38: 1-9.
- NUTTALL, G. H. F. 1901. *The influence of color upon Anopheles*. British Medic. Jour.

- PARKER, A. H. 1948. *Stimuli involved in the attraction of Aedes aegypti to man*. Bull. Ent. Res. 39: 387-397.
- 1952. *The effect of a difference in temperature and humidity on certain reactions of female Aedes aegypti*. Bull. Ent. Res. 43: 221-229.
- PETERSON, D. G. and A. W. A. BROWN. 1951. *Studies on the responses of the female Aedes mosquito, III. The responses of Aedes aegypti to a warm body and its radiation*. Bull. Ent. Res. 42: 535-541.
- RAHM, U. 1956. *Zum Problem der Attraktion von Stechmücken durch den Menschen*. Acta Tropica 13: 319-344.
- 1957. *Zur Bedeutung der Duftstoffe und des Schweisses bei der Attraktion von Aedes aegypti durch den Menschen*. Acta Tropica 14 (3) (im Druck).
- REEVES, W. C. 1953. *Quantitative field studies on a carbon dioxide chemotropism of mosquitoes*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2: 325-331.
- REUTER, J. 1936. *Orienterend onderzoek naar de oorzaak van het gedrag van Anopheles maculipennis by de voedselkeuze*. Acad. Proefschr. Leiden: 1-118.
- RUDOLFS, W. 1922. *Chemotropism of mosquitoes*. Bull. N. J. Agr. Expt. Sta. No 367: 1-23.
- SCHAERFFENBERG, B. und E. KUPKA. 1951. *Orientierungsversuche an Stomoxys calcitrans und Culex pipiens mit einem neuen Blutduftstoff*. Trans. Int. Congr. Ent., 9. Congr. Amsterdam 1: 359-361.
- SIPPELL, W. L. and A. W. A. BROWN. 1952. *Studies on the responses of the female Aedes mosquito, Part V. The role of visual factors*. Bull. Ent. Res. 43: 567-574.
- SMART, M. R. and A. W. A. BROWN 1956. *Studies on the responses of the female Aedes mosquito. Part VII. The effect of skin temperature, hue and moisture on the attractiveness of the human hand*. Bull. Entom. Res. 47: 89-100.
- VAN THIEL, P. H. 1937. *Quelles sont les excitations incitant l'Anopheles maculipennis à visiter et à piquer l'homme ou le bétail?* Bull. Soc. Pathol. Exotique 30: 193-203.
- 1947. *Attraction exercée sur Anopheles maculipennis atroparvus par l'acide carbonique dans un olphactomètre*. Acta Tropica 4: 10-20.
- et C. WEURMAN. 1947. *Attraction exercée sur Anopheles maculipennis atroparvus par l'acide carbonique dans l'appareil de choix II*. Acta Tropica 4: 1-9.
- and J. J. LAARMAN. 1953. *What are the reactions by which the female Anopheles finds its blood supplier?* Doc. Medicina geogr. trop. 6: 156-161.

- THOMPSON, R. P. and A. W. A. BROWN. 1955. *The attractiveness of human sweat to mosquitoes and the role of carbon dioxide*. Mosquito News 15: 80-84.
- WILLIS, E. R. 1947. *The olfactory responses of female mosquitoes*. J. Econ. Ent. 40: 769-778.
- and L. M. ROTH. 1952. *Reactions of Aedes aegypti to carbon dioxide*. J. Exper. Zool. 121: 149-179.
-

Nº 10. **Burla, H. und A. Kälin**, Zürich. — Biometrischer Vergleich zweier Populationen von *Drosophila obscura*.

Da *Drosophila*-Arten in ihren morphologischen Merkmalen oft stark variieren [1] und überdies manche der Spezies leicht züchtbar sind, bilden sie ein brauchbares Material für Studien im Sinne der Neuen Systematik.

Die hier besprochenen Ergebnisse wurden gewonnen aus einer vorbereitenden Arbeit, die abklären sollte, welche Körpermerkmale von *Drosophila obscura* sich für einen biometrischen Vergleich eignen, wie die Muster am besten gewählt werden und welche statistischen Verfahren angelegt werden können.

MATERIAL UND METHODE

Die Fliegen stammen von den zwei Orten Voraugen (Kanton Glarus; 860 m ü. M.; Fangzeit 16.—22. Juli 1956; Fangplätze: Auenwald, Waldränder) und Bex (Kanton Waadt; 550 m ü. M.; Fangzeit 21.—25. September 1956; Fangplatz: feuchter Schluchtwald des Avançon). Als Köder wurden zerkleinerte, mit Bäckerhefe versetzte Äpfel verwendet. Jedes im Freien gefangene Weibchen wurde in Gesellschaft eines Männchens in einem Tubus mit Maisfutter isoliert angesetzt und die Zuchten nach erfolgter Eiablage bei 25° C gehalten. Beim Fortschreiten der Larvenentwicklung wurden die Zuchten täglich mit dicker Hefeaufschwemmung beschickt.

Pro Weibchen wurde aus der ersten Nachkommengeneration je ein Männchen verwertet; seine Auswahl aus der Geschwisterschaft erfolgte zufallsmässig mit Hilfe eines Lotteriesystems. Die zur Verwertung bestimmten Männchen wurden in Alkohol 96% konserviert. Messungen und Zählungen wurden an folgenden Merkmalen ausgeführt:

Thoraxlänge — Tier in Seitenlage, Flügel entfernt, Messstrecke von Halsöffnung bis Scutellumapex, Werte in Messokular-Einheiten zu 24,5 μ .

Borsten des 5. Sternits (zweithinterste borstentragende Bauchplatte).

Geschlechtskammborsten — alle 4 Geschlechtskämme pro Tier zusammengekommen.

Costalborsten — die Anzahl der kräftigen Costalbörstchen, die auf den 3. Costalabschnitt entfallen, gesamthaft für beide Flügel.

Forcepszähne — „primary teeth“ nach Hsu [3], beide Forcipes zusammengekommen.

Länge des linken Flügels, die Querfalte im Radialstamm (etwas basal der Humeralquerader) als proximalen Messpunkt gewählt. Werte in mm.

Reed-Index [5] = Flügelfläche \times (Flügelänge)³, berechnet für den linken Flügel. Die proximale Begrenzung wurde durch eine Gerade festgelegt, die die Humeralquerader mit der Einkerbung distal der Alula verbindet.

ERGEBNISSE

Zwischen den beiden Mustern fanden sich gesicherte Unterschiede in der Thoraxlänge, der Anzahl Geschlechtskammborsten, der Anzahl Costalborsten, in der Flügelänge und im Reed-Index (Tab. I). Die Unterschiede können als Ausdruck rassenmässiger Divergenz der durch ca. 170 km Luftlinien-Distanz voneinander isolierten Populationen gewertet werden. Immerhin lassen sich andere Deutungsmöglichkeiten nicht ausschliessen, zum Beispiel die, dass die Unterschiede durch die etwas verschiedenen Jahreszeiten bewirkt sind, in denen die Fänge erfolgten, oder durch die

ca. 300 m Höhenunterschied zwischen den beiden Fangorten. Sie könnten auch eine ökotypische Anpassung an verschiedene Vegetationsbedingungen bedeuten, oder eine Folge unkontrollierbarer Änderungen in den Zuchtbedingungen sein, wie sie in der Zeitspanne von 2 Monaten zwischen der Aufzucht der beiden Muster denkbar sind.

Tab. II zeigt, dass die Körperlänge in den beiden Mustern erwartungsgemäss mit der Flügellänge und dem Reed-Index korreliert ist, ausserdem sind Flügellänge und Reed-Index eng korreliert. Es erübrigt sich also, alle drei Merkmale zum Charakteri-

TABELLE I.

Vergleich von Muster Bex (93 ♂♂) mit Muster Vorauen (100 ♂♂).

B = Bex, V = Vorauen.

Merkmal	Ort	Durchschnitt	t	Variationsbreite dividiert durch Streuung	Variationskoeffizient
Thoraxlänge	B	45,57	6,447***	4,58	2,88 ± 0,21
	V	46,84		4,20	3,06 ± 0,22
Borsten des 5. Sternits	B	16,43	0,572	4,56	12,05 ± 0,88
	V	16,60		4,19	12,97 ± 0,92
Geschlechtskamm borsten	B	26,57	2,646**	5,00	9,06 ± 0,66
	V	27,43		5,24	7,67 ± 0,54
Costalborsten	B	24,12	3,989***	6,27*	11,27 ± 0,83
	V	25,64		4,26	10,09 ± 0,71
Forcepszähne	B	17,42	1,00	5,05	9,12 ± 0,67
	V	17,63		6,79**	7,53 ± 0,53
Flügellänge	B	1,77	14,885***	5,23	2,92 ± 0,21
	V	1,89		5,46	2,91 ± 0,21
Reed-Index	B	32,32	14,532***	6,13*	14,18 ± 1,04
	V	43,51		5,28	13,96 ± 0,99

sieren des rassenmässigen Unterschieds zu verwenden, vielmehr reicht die Flügellänge hierzu aus als dasjenige Merkmal, das den höchsten t-Wert ergab. Eine Korrelation zwischen Geschlechtskamm borsten und Costalborsten ist auf das Muster von Bex beschränkt und demnach wahrscheinlich umweltbedingter Natur,

wie dies auch bei der Streuungserlegung des anderen Musters von Bex (nächstes Kapitel) als Tendenz zum Ausdruck kommt.

Über die Variabilität der einzelnen Merkmale gibt ebenfalls Tab. I Auskunft. Zum Vergleich der Streuungen dient einmal der Quotient aus Variationsbreite und Standardabweichung, der für Normalverteilung und eine Mustergrösse von 100 Beobachtungen bei 5,02 liegt, mit den oberen Grenzen bei 6,08 und 6,63 für 5%

TABELLE II.

Korrelationskoeffizienten für die Merkmale:

1 = Thoraxlänge, 2 = Borsten des 5. Sternits, 3 = Geschlechtskammborsten, 4 = Costalborsten, 5 = Forcepszähne, 6 = Flügellänge, 7 = Reed-Index, getrennt berechnet für Voraugen und Bex. Werte von $\geq |0,195|$ und $\geq |0,254|$ sind gesichert von Null verschieden bei 5% beziehungsweise 1% Irrtumswahrscheinlichkeit.

	2	3	4	5	6	7
1	0,141	0,009	—0,119	0,033	0,501**	0,527**
	2	—0,042	0,228*	0,061	0,230*	0,237*
		3	—0,005	0,040	—0,104	—0,105
			4	0,144	0,072	0,085
VORAUEN				5	0,085	0,079
					6	0,976**

	2	3	4	5	6	7
1	—0,050	0,100	0,095	0,235*	0,278**	0,340**
	2	—0,002	0,057	0,032	0,029	0,057
		3	0,276**	—0,001	0,148	0,172
			4	—0,065	0,074	0,094
BEX				5	0,150	0,172
					6	0,971**

beziehungsweise 1% Irrtumswahrscheinlichkeit [6]. Im Muster von Bex zeigen sich ausnehmend grosse Variationsbreiten bei den Costalborsten und im Reed-Index, im anderen Muster bei den Forcepszähnen. Als eine andere Vergleichsmöglichkeit für Streuungen dient der Variationskoeffizient nach PEARSON, korrigiert

nach HALDANE [2]. Er zeigt recht hohe Werte, höchste beim Reed-Index. Dieser Index, der auffallend verschiedene Durchschnitte für die beiden Muster ergibt und biologisch ein sinnvolles Mass ist, streut leider so stark, dass seine Verwendbarkeit gegenüber der Flügellänge herabgesetzt ist. Für jedes Merkmal sind sich die Variationskoeffizienten beider Muster sehr ähnlich und bei keinem Merkmal gesichert voneinander verschieden. Für einen rassenmässigen Vergleich von Populationen eignen sich stark variable Merkmale durchaus, vorausgesetzt, dass die Variation genotypischer Art ist. Das nächste Kapitel gibt Anhaltspunkte über die Natur der Variabilitäten, allerdings nicht für die eben besprochenen Muster.

STREUUNGSZERLEGUNG AN EINEM WEITEREN MUSTER

Anfangs Juli wurde am Waldrand bei Les Venéresses (oberhalb Bex) auf etwa 740 m ü. M. ein Muster von *D. obscura* gesammelt. Von 5 Weibchen wurden darauf je 2 Eigelege gewonnen und bei 25° C zur Entwicklung gebracht. Aus der Geschwisterschaft jedes Geleges wurden je 10 Männchen zufallsmässig aussortiert und in bezug auf die in Tab. III erwähnten Merkmale analysiert. Es liessen sich 3 Streuungsquellen unterscheiden:

- a) Unterschiede zwischen den 5 Sippen (entsprechend den 5 ♀♀);
- b) Unterschiede zwischen den 2 Gelegen pro Weibchen;
- c) Unterschiede zwischen den Männchen innerhalb der Gelege.

Der Betrag, um den die Streuung von b) grösser ist als diejenige von c) geht auf Konto Milieueinfluss, und der Betrag, um den die Streuung von a) grösser ist als diejenige von b), geht auf Konto Erbunterschiede. In Tab. III sind diese Streuungsvergleiche als F-Werte ausgedrückt.

TABELLE III.

F-Werte aus der Streuungszerlegung, ausgeführt am weiteren Muster von Bex

Merkmal	F für Erbunter- schiede	F für Milieu- einfluss
Thoraxlänge	5,38*	2,00
Borsten des 5. Sternits . . .	1,27	1,19
Geschlechtskammborsten . .	1,15	2,978*
Forcepszähne	4,758	1,398
Costalborsten	0,01	2,33*

Ein gesicherter genotypischer Einfluss ergibt sich nur bei der Thoraxlänge, gesicherte Milieueinflüsse verraten sich bei den Geschlechtskamm- und Costalborsten. Es ist wohl besser, im Fall der Körperlänge nicht von genotypischer Bedingtheit, sondern von mütterlichem Einfluss zu sprechen, denn es ist denkbar, dass bei der ersten Nachkommengeneration, wie sie hier untersucht wurde, neben genetischen Einflüssen noch Prädetermination mitspielt.

TABELLE IV.

Korrelationskoeffizienten für die Merkmale:

1 = Thoraxlänge, 2 = Borsten des 5. Sternits, 3 = Geschlechtskammborsten, 4 = Forcepszähne, 5 = Costalborsten, getrennt berechnet für Unterschiede zwischen den 5 Sippen (a), zwischen den Gelegen innerhalb der Sippen (b) und zwischen den Männchen innerhalb der Gelege (c).

	2	3	4	5	
1	0,472	0,524	0,921*	— 0,525	(a)
2		0,338	0,519	— 0,665	
		3	0,512	0,183	
			4	0,361	

1	0,651	0,148	0,035	— 0,098	(b)
2		0,352	— 0,077	0,336	
		3	— 0,919*	0,614	
			4	— 0,365	

1	0,033	0,048	0,071	— 0,053	(c)
2		0,004	— 0,006	— 0,133	
		3	— 0,071	0,062	
			4	0,149	

In Tab. IV sind die Korrelationskoeffizienten für die möglichen Kombinationen zweier Merkmale eingetragen, und zwar gesondert für „Erbeinfluss“ (a), Umweltseinfluss (b) und einen restlichen Einfluss (c), den man dem Zufall zuschreiben wird. Als „erblich“ korreliert erweisen sich lediglich Thoraxlänge mit Forcepszähnen. Die übrigen Korrelationskoeffizienten in (a) sind aber fast alle hoch und lassen vermuten, dass sich bei Steigerung der Muster-

grösse noch mehr Merkmale als genotypisch korreliert erweisen dürften. Unter den umweltbedingten Korrelationen ist einzig diejenige zwischen Geschlechtskammborsten und Forcepszähnen gesichert. Eine solche negative Korrelation zwischen den beiden Merkmalen wurde von PREVOSTI [4] bei *D. subobscura* ebenfalls festgestellt, wenn auch auf anderem Wege.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

1. Für den rassenmässigen Vergleich eignen sich bei *D. obscura* die Merkmale Flügellänge, Anzahl Geschlechtskammborsten und Costalborsten, Anzahl Forcepszähne und Borstenzahl auf dem 5. Sternit. Von diesen Merkmalen wird angenommen, dass sie im Rahmen der gewählten Mustergrösse keine regelmässigen und genotypisch bedingten Korrelationen aufweisen.

2. In bezug auf Flügellänge, Costal- und Geschlechtskammborsten bestehen Unterschiede zwischen zwei Populationen, die in der Luftlinie 170 km weit auseinanderliegen.

3. Um aber entscheiden zu können, ob solche Unterschiede genotypisch, umwelt-, rassenmässig oder zufallsbedingt sind, ist ein Aufbau des Experiments nötig, der eine Streuungszerlegung erlaubt sowie ein Berechnen der Korrelationen separat für jeden der Streuungsfaktoren.

LITERATUR

1. BURLA, H. 1956. *Rassenvorkommen bei Drosophiliden*. Arch. J. Klaus-Stift. 31 (3/4): 290-294.
2. HALDANE, J. B. S. 1955. *The measurement of variation*. Evolution 9: 484-485.
3. HSU, T. C. 1949. *The external genital apparatus of male drosophilidae in relation to systematics*. Univ. Texas Publ. 4920: 80-142.
4. PREVOSTI, A. 1954. *Genetical variability in natural populations of Drosophila subobscura*. Atti Congr. int. Genetica. Caryologia, vol. suppl.
5. REED, S. C., C. M. WILLIAMS and L. E. CHADWICK. 1942. *Frequency of wing-beat as a character for separating species, races and geographical varieties of Drosophila*. Genetics 27: 349-361.
6. SNEDECOR, G. W. 1950. *Statistical methods*. Ames, Iowa.

Nº 11. **H. Woker** und **K. Wuhrmann**, Zürich. — Die Reaktion der Bachfauna auf Gewässervergiftungen.

(Eidg. Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz an der E.T.H. Direktor: Professor Dr. O. Jaag ¹.)

Jedem Gewässer ist eine typische Biocoenose als Folge einer Reihe bestimmender oekologischer Faktoren zu eigen. Von wesentlichem Einfluss ist dabei die chemische Zusammensetzung des Wassers. Veränderungen im Gewässerchemismus werden, wenn sie langfristig auftreten, mit entsprechend langsamer Umgestaltung der Biocoenose beantwortet. Kurzfristige und einmalige Abweichungen dagegen, bleiben im allgemeinen ohne sichtbaren Einfluss auf das Leben im Wasser, es sei denn, es handle sich um plötzliche, akute Giftwirkungen, welche zum Tode eines mehr oder weniger grossen Teils der Organismen führen. Doch selbst Eingriffe dieser Art, welche den Ausfall eines bestimmtem Teils der Glieder einer Lebensgemeinschaft zur Folge haben, werden, wie die Beobachtung zeigt, mit der Zeit wieder ausgeheilt bis zur völligen Wiederherstellung des ursprünglichen Oekotyps.

Die „Wiederbelebung“ eines durch Giftstoffe geschädigten Wasserlaufes erfolgt durch aktive und passive Einwanderung der Organismen, durch Neubeginn von Entwicklungszyklen, sowie durch frische Auskeimung und Sprossung. Das Tempo und die Intensität, mit denen solche Prozesse vor sich gehen, sind abhängig von der Jahreszeit, morphologischen und hydrologischen Verhältnissen und von den physikalisch-chemischen Gegebenheiten des betreffenden Wassers.

Die in der Folge von Gewässervergiftungen auftretenden Verödungen spielen vor allem bei gleichzeitig mit dem Ereignis einhergegangenen Fischsterben eine gewisse Rolle bei der Ermittlung des Schadenmasses. Die betroffenen Inhaber der Fischereirechte machen oft geltend, dass ein vergiftetes Gewässer für mehrere Jahre als Fischwasser wertlos geworden sei. Demgegenüber steht jedoch die erstaunliche Feststellung, dass nicht selten in ver-

¹ 11. Mitteilung « Zur Toxikologie der Fische » aus der E.A.W.A.G.

gifteten Bächen schon verhältnismässig kurze Zeit nach dem Ereignis wieder eine reiche Fauna und Flora angetroffen werden kann. Die offensichtliche Ungewissheit über den Ablauf einer Gewässervergiftung und die Art und Weise der Wiederbesiedlung, veranlassten uns, anhand einer „Modellbachvergiftung“ näheren Einblick zu nehmen.

Die Fischerei- und Jagdverwaltung des Kantons Zürich¹ stellte uns für diesen Versuch, welcher in Mai 1956 zur Durchführung gelangte, im zürcherischen Furttal den zwischen Buchs und Dällikon gelegenen Krümbelgraben zur Verfügung. Dieses Wiesenbächlein ist ein offener, gerader, über rund 300 m in Ost-Westrichtung verlaufender Drainagevorfluter. Das Gerinne, eingebettet in einen V-förmigen Geländeeinschnitt von 3,5 bis 4 m Tiefe, ist durchwegs 55 cm breit, weist seitliche Rundholzwuhlung auf und Natursohle. Die Wasserführung betrug zur Zeit unseres Versuches im Mittel 40 Minutenliter, die Wassertiefe 15 bis 20 cm. Die südliche Böschung ist auf der ganzen Länge mit schattenspendendem Buschwerk bestockt. Die Versuchsstrecke, welche mit rund 180 m Länge nur einen Teil des ganzen Grabensystems einnahm, mündet in ein kleines Tosbecken.

Der Krümbelgraben wird von zwei Drainageleitungen gespiesen. Sein Wasser ist schwach mit Nährstoffen beladen (Sulfat: 23,8 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$; Gesamt-N: 3,0 mg/l; Phosphat: 0,01 mg P/l; El. Leitfähigkeit: $505 \text{ cm}^{-1} \Omega^{-1} 10^{-6}$; Gesamthärte: 35,5 frz.H°; Oxydierbarkeit: 4,8 mg KMnO_4/l) und erhält vermutlich einen Zuschuss von häuslichem Abwasser. Seine Biocoenose ist oligo- bis leicht mesosaprob. Die tierische Besiedlung wird dementsprechend dominiert von Ephemeriden, Chironomiden (Orthocladiinen, Tanypodinen), Gammarus, aber auch von Tubifex, ferner sind Egel und Planarien reichlich vorhanden.

Der Krümbelgraben wird von der kantonalen Fischereiverwaltung als Aufzuchtgewässer für Forellen benutzt. Das bedeutet, dass in jedem Frühjahr Brut eingesetzt wird, und die Fischchen im darauffolgenden Herbst mittels Elektrogerät wieder herausgefangen werden. Zur Zeit unseres Experiments befanden sich im

¹ Dem zürcherischen Fischerei- und Jagdverwalter, Ing. E. Amman, der uns die Bewilligung zur Durchführung dieses Versuches erteilte, sei für seine tatkräftige Hilfe und Unterstützung auch an dieser Stelle der beste Dank ausgesprochen.

Versuchsabschnitt vom Vorjahre her noch ein rundes Dutzend Jährlinge und ausserdem einige Brutfischchen aus Naturverlaichung.

Als Gift diente **Chlor**, das aufgrund mehrerer Versuche gasförmig ins Bachwasser geleitet wurde. Für die Anwendung von Chlor, das ein eher seltenes Gewässergift ist, war dessen restlose Entgiftungsmöglichkeit massgebend. Aus einer 5 kg Chlorbombe, welche zur Kühlung im Wasser stand, wurde der Gasstrom über ein Flowmeter einem parallel geschalteten System von 10 quer ins Bachbett gehängten Glasfritten zugeleitet, durch welche er in feinen Perlen ins Wasser austrat. (Abb. 1). Das nicht in Lösung

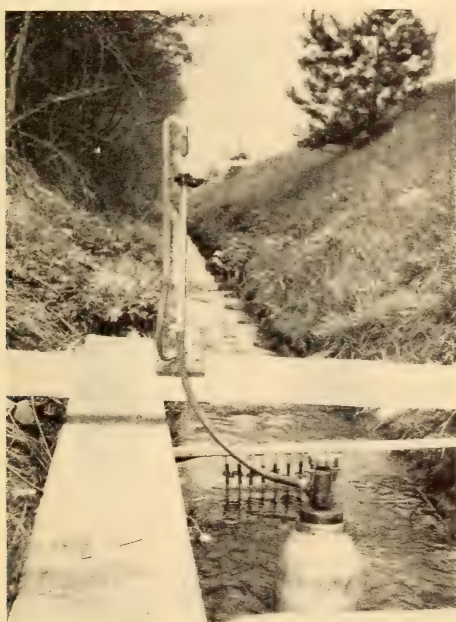


ABB. 1.

Krümbelgraben, die Einleitung von Chlorgas ins Bachwasser.

gehende Chlorgas entwich frei in die Atmosphäre. In einer Entfernung von 14, 60, 120 und 180 m unterhalb der Einleitungsstelle wurden alle Viertelstunden Wasserproben erhoben und unverzüglich titrimetrisch auf ihren Chlorgehalt analysiert. Die Zeit der Probenahmen an den einzelnen Stellen entsprach der Fliesszeit

der Giftwelle, welche mit Fluorescein-Färbung ermittelt worden war. Anhand der Analysen, wie auch der ständigen biologischen Kontrollen, liess sich die Giftdosierung im gewünschten Rahmen regulieren. Es gelang, den Chlorgehalt verhältnismässig konstant zu halten und es war eine gleichmässige Abnahme der im Wasser gelösten Chlormenge von ca. 2 mg pro 60 Meter Fliesstrecke festzustellen. Die mittlere Chlorkonzentration betrug während den ersten vier Stunden rund 7 mg/l bei einem Maximum von 10 mg beim vierzehnten und einem Minimum von 4 mg/l beim hundert-achtzigsten Laufmeter. In der letzten Versuchsstunde wurde die Dosis erhöht und betrug nun im Mittel 12 mg (Maximum 16,

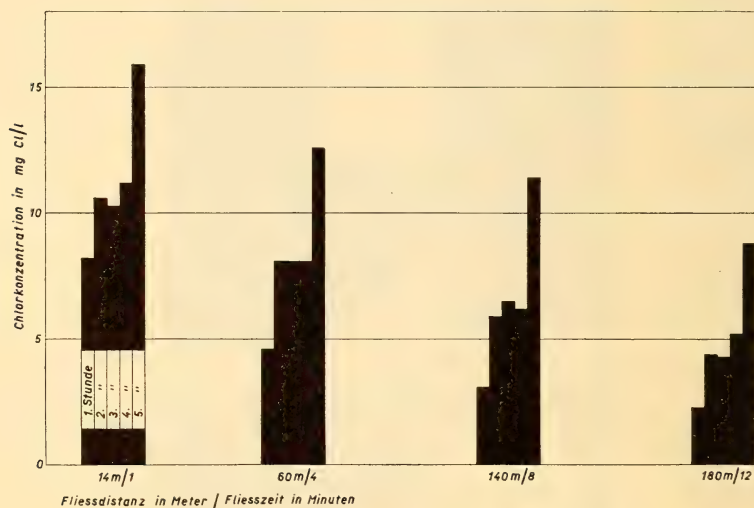


ABB. 2.

Abnahme der Cl-Konzentration im Wasser in Abhängigkeit von der Fliesstrecke, dargestellt in Stundenmitteln (4 Messungen pro Stunde).

Minimum 9 mg Cl/l) (Abb. 2). Die Giftwirkung wurde während genau fünf Stunden aufrecht erhalten.

Die Entgiftung erfolgte mit Na-Thiosulfatlösung, welche in stöchiometrisch berechneter Menge in feinem Strahl am unteren Ende der Versuchsstrecke beim Einfluss in das Tosbecken ins Wasser geleitet wurde. Die Aufenthaltszeit des Wassers im Tosbecken von ca. 5 Minuten und die darin herrschende Turbulenz führten zu einer restlosen Entgiftung, welche laufend durch qua-

litativen Farbstest mit Orthotolidin geprüft und überdies durch einen Forellensömmerling bewiesen wurde, der sich während des ganzen Versuchs unmittelbar unterhalb des Tosbeckens aufhielt.

Zur Kontrolle der oekologischen Verhältnisse dienten quantitative Aufnahmen der Fauna vor und nach der Vergiftung. Zu diesem Zwecke wurde das ganze Bachbett rund 8, 60, 120 und 180 Meter unterhalb der Chloreinleitungsstelle auf je einer Fläche von ca. 0,5 m² bis zu einer Tiefe von ca. 3 cm ausgeräumt und der ganze Bestand der am häufigsten vertretenen Tierarten (lebende und tote) ausgezählt. Diese Zählungen erfolgten am Tage vor, ferner am ersten, sechsten und vierzehnten Tag nach der Vergiftung.

Zehn bis fünfzehn Minuten nach Beginn der Chloreinleitung krochen überall entlang des vom Wasser überfluteten Gerinnes die Oligochaeten der Gattungen *Limnodrilus* und *Lumbriculus* in grossen Massen aus dem Boden und wurden bündelweise sterbend abgetrieben. In Hinterwassern und im Tosbecken sammelten sich bald ganze Klumpen von toten Würmern an. Sehr bald begannen auch Flohkrebse und die nicht im Schlamm oder vorzugsweise unter den Steinen lebenden Ephemeridenlarven wie *Baëtis*, und *Ephemerella* unruhig im Wasser herumzuschliessen, viele davon wurden von der Flut weggetragen. Mit Ausnahme der im Untergrund lebenden Oligochaeten, ferner der unter den Steinen und im dichten Bewuchs hausenden Ecdyonuriden-, Plecopteren- und Chironomidenlarven, waren es die frei umherschwimmenden, sowie die verhältnismässig ungebunden auf der Oberfläche des Grundbelages lebenden Organismen, welche zuerst von der Giftwelle erfasst wurden und ihr mehr oder weniger quantitativ zum Opfer fielen.

Nach rund 10 Minuten Einwirkungszeit erschienen die ersten taumelnden Forellenjährlinge. Die Fische kamen unruhig aus ihren Unterschlupfen hervor, verbargen sich wieder, kippten gelegentlich in Seitenlage und wurden zusehends matter. Sie konnten ohne weiteres von Hand gegriffen werden. Einzelne liessen sich apathisch bald kopf- und bald schwanzvoran vom Wasser eine Strecke weit mittragen, bis sie wieder irgendwo hängen blieben. Beim Verhalten der Fische waren typisch, die sehr intensive Atmung, gelegentliches Luftschnappen aber kein Springen. Die Unruhe steigerte sich nirgends zum krampfhaften Herumschiessen, sondern manifestierte sich in einem langsamen aber steten Hin und

Her. Man hatte niemals den Eindruck, dass die Fische vom Gift gereizt wurden, vor der Giftwelle auswichen, oder von ihr mitgerissen wurden, sondern vielmehr, dass sie sich nach allen Kräften bemühten, an Ort und Stelle im Wasser stehen zu bleiben. Tote und schwer geschädigte Forellen lagen nie weit von ihrem ursprünglichen Standplatz entfernt. Trotzdem einzelne Fische, sobald sie als geschädigt erkannt wurden, unverzüglich in Frischwasser mit zusätzlicher Belüftung mit reinem Sauerstoff umgesetzt wurden, wo sogar manche noch bis zu einer halben Stunde scheinbar ungeschädigt herumschwammen, verendeten sie ausnahmslos alle. Eine Erholung war in keinem Fall festzustellen, die Chlorschädigung ist offenbar irreversibel, was wir seither noch in weiteren Versuchen auch an Fischnährtieren beobachten konnten.

Dreiviertelstunden nach Vergiftungsbeginn krochen überall reichlich Egel (*Haemopsis*, *Herpobdella*, *Glossiphonia*) herum und wurden sterbend abgetrieben. Nach anderthalb Stunden erreichte das Treiben toter oder sterbender Tiere im Wasser allmählich die grösste Dichte. Von Ephemerella und Baëtis fanden sich nur noch vereinzelte lebende Exemplare, dagegen schienen Ecdyonurus, ferner die grabende Ephemeridenlarve *Ephemer*, aber auch die Steinfliege *Nemura* noch durchwegs munter und vom Chlor nicht geschädigt zu sein. Ebenso waren Chironomiden und Trichopteren noch alle am Leben. Zwei Stunden nach Versuchsbeginn ergaben Stichproben bei 8, 60, 120 und 180 Metern, dass alle Oligochaeten mit Ausnahme der Tubificiden, ferner *Gammarus*, *Ephemerella*, *Baëtis* längs der ganzen Strecke tot waren. Dagegen lebten noch: die Tubificiden, der grösste Teil der Chironomiden, die Plecopteren, die Trichopteren, die Napfschnecke *Ancylus* und etwa die Hälfte der Egel. Bei weiteren Stichproben im Verlauf der nächsten drei Versuchsstunden tauchten jedoch immer wieder einzelne lebende Exemplare der zuerst getöteten Organismen auf. Die mittleren Absterbezeiten der einzelnen Tierarten stimmen, soweit wir dies bisher im Experiment geprüft haben, mit den hier gefundenen Werten überein. Nach Schluss des Giftabflusses und nachdem in der letzten Versuchsstunde die mittlere Chlordosis verdoppelt wurde, lebten noch überall Tubificiden, Chironomiden, Trichopteren, sowie die Ephemeriden: *Ephemer* und *Ecdyonurus*.

Die Kontrolle am Tage nach der Vergiftung ergab, dass der Bewuchs längs des Bachrandes verdorrt, die im Wasser flutenden

Grünalgen und die Fontinalisbestände gebleicht, die Beläge einzelliger Grünalgen auf den Steinen jedoch grün geblieben waren. Das Bachbett machte einen auffallend sauberen, ausgewaschenen Eindruck, wie dies gelegentlich nach Hochwassern der Fall ist. Überall lagen jedoch tote Würmer, Egel und Insektenlarven, wovon viele trotz der relativ tiefen Wassertemperatur von durchschnittlich 10° C schon stark verwest waren und das Treiben toter Tiere hielt immer noch an. Interessanterweise war nun aber auch der vorwiegende Teil der nach Versuchsabbruch noch lebenden Chironomiden, Trichopteren (von denen die gehäusetragenden aus den Köchern geschlüpft waren), ferner *Ecdyonurus* und *Ephemeralarven* tot. Laborexperimente mit den genannten Tierarten ergaben tatsächlich eine erhöhte Chlorresistenz dieser auch im Feldversuch zuletzt abgetöteten Formen. Dabei sind die gehäusetragenden Trichopteren nicht etwa durch die geringe Wasserzirkulation im Köcher vor der Giftwirkung einigermaßen geschützt, indem sich ergab, dass die Absterbezeit der Köcherfliegenlarven in- und ausserhalb ihrer Köcher dieselbe ist. Im Gegensatz zum Laborversuch hatten die Egel bei der Bachvergiftung auffallend wenig gelitten, fanden sich doch am Tage nach der Vergiftung in allen Proben wieder gleich viele lebende Exemplare wie vor dem Versuch. In völlig unerwarteter Weise erschienen auch trotz dem grossen Sterben am Vortage wieder sehr viele lebende Oligochaeten.

Zusammenfassend ergibt sich, dass die Fischnährtiere entsprechend ihrer individuellen Resistenz gegenüber dem Giftstoff, diesem in gleicher Weise erliegen wie die Fische und dass der gleichzeitige Ausfall der Nährtierfauna bei einem Fischsterben, dessen Ursache eine Gewässervergiftung ist, bei der Beurteilung des Schadens unbedingt in Betracht gezogen werden muss.

Die Probenahmen am sechsten und vierzehnten Tage nach der Vergiftung dienten der Beobachtung der **Wiederbesiedlung**. Diese konnte, soweit es sich um Einwanderung handelte, praktisch nur vom Oberlauf her erfolgen, da das Tosbecken und ein kleiner Absturz am unteren Ende der Versuchsstrecke den Zugang von dieser Seite her stark erschwerten. Die Entvölkerung, beziehungsweise Wiederbesiedlung der vergifteten Bachstrecke ist in den Tabellen 1 und 2 dargestellt. Tabelle 1 zeigt, dass sich allen voran der Chironomidenbestand offenbar rasch und gut erholte. Dazu ist allerdings zu bemerken, dass nach der Vergiftung hauptsächlich

TABELLE 1.

Krümbelgraben, Anzahl überlebender Tiere pro m²
(ohne oberste Kontrollstrecke).

		Individuen/m ²			
		Vorher	Tage nach Vergiftung		
			1	6	14
Würmer	<i>Planaria, Lumbriculus, Limnodrilus, Tubifex, Gordius</i>	(36)	(142)	(42)	(81)
Egel	<i>Glossiphonia, Herpobdella, Haemopsis</i>	16	15	14	9
Flohkrebse	<i>Gammarus pulex</i>	39	1	2	1
Steinfliegen	<i>Nemura</i>	14	3	1	2
Eintagsfliegen	<i>Ephemera, Ecdyonurus, Ephemerella, Baëtis, Habrophlebia</i>	76	63	29	33
Köcherfliegen	<i>Rhyacophila, Limnophilus, Anabolia, Sericostoma</i>	200	1	1	1
Zuckmücken	Orthocladiinen, Tanypodinen	44	26	37	16
Käfer	<i>Elmis, Haliphus, Agabus</i>	290	48	39	312
Schnecken	<i>Ancylus</i>	7	3	8	6
		19	0	0	0
Total (ohne Würmer)		705	159	129	377

TABELLE 2.

Krümbelgraben, Wiederbesiedelung nach Cl-Vergiftung.

Kontrollstellen	Vergiftung		Individuen pro m ²			
	Dauer Std	mg Cl ₂ /l	vorher	Tage nach Vergiftung		
				1	6	14
I. 8 m	5	10,4	150	66	199	294
II. 60 m	5	8,1	219	51	34	196
III. 120 m	5	6,0	299	73	53	144
IV. 180 m	5	4,5	191	45	54	75
Total			859	235	340	709

sehr junge Larven in grösserer Zahl gefunden wurden, welche vermutlich erst nach dem Versuch geschlüpft waren. Betrachtet man die Totalzahlen in Tabelle 2, so möchte man annehmen, dass schon zwei Wochen nach dem Ereignis der ursprüngliche Zustand annähernd wiederhergestellt war. Dies kommt jedoch daher, wie Tabelle 2 überdies zeigt, dass hauptsächlich die oberste Kontrollstrecke schon 6 Tage nach der Vergiftung wieder gut besiedelt war. Es liess sich hier tatsächlich schon am Tage nach der Vergiftung eine merkliche Zuwanderung vor allem der frei herumschwimmenden Organismen, wie *Gammarus*, *Ephemerella* und *Baëtis* feststellen. Ähnliches gilt auch für die Chironomiden und die Trichopteren *Limnophilus* und *Anabolia*. Somit erscheinen also in einem Fliesswasser und zwar durch Einwanderung, sofern von der Schädigung verschonte Zuflüsse vorhanden sind, zuerst wieder diejenigen Formen, welche auch unter normalen Verhältnissen verhältnismässig oft und leicht ihren Standort wechseln. Nachteiliger wirkte sich die Vergiftung auf die weniger beweglichen, mehr ortsgebundenen Tiere aus. Diese werden wohl vornehmlich durch natürliche Vermehrung wieder ersetzt.

In den weiter bachabwärts liegenden Kontrollabschnitten geschah die Wiederbesiedlung erheblich langsamer und war nach vierzehn Tagen noch keineswegs beendet. Unsere Untersuchungen mussten nach dieser Zeit abgebrochen werden, weil der Bach wieder mit Forellenbrut bestockt wurde.

TABELLE 3.

Krömbelgraben, Ertragsstatistik der Bachforellensömmerung.(Bachfläche 860 m², Zahlen der zürcherischen Fischerei- und Jagdverwaltung.)

Jahrgang	Einsatz		Aufzucht- dauer in Tagen	Sömmerlingsertrag		
	in Stk.	pro m ²		in Stk.	pro m ²	Aufzuchtser- gebnis in %
1951	6000	7	112	1174	1,4	19,6
1952	8500	10	152	1375	1,6	16,2
1953	8500	10	232	825	0,96	9,7
1954	8500	10	183	642	0,75	7,6
1955	8000	9,4	201	1907	2,2	23,8
1956 ¹	7000	8,1	125	2180	2,5	31,2

¹ Jahr des Versuchs

Die Folgen der Vergiftung bestanden somit nach Ablauf von vierzehn Tagen in einer Verminderung der Gesamtzahl aller Organismen, dies besonders in dem der Einwanderung weniger gut zugänglichen unteren Versuchsabschnitt, sowie in einer qualitativen Verschiebung der Zusammensetzung der Fauna des geschädigten Biotops.

Zwei Wochen nach der Vergiftung, als durch unsere Untersuchungen feststand, dass eine genügende Nährfauna vorhanden war, wurde wiederum Forellen-Dottersackbrut eingesetzt. Tabelle 3 zeigt, dass sich aus dem Abfischungsergebnis im darauffolgenden Herbst, das aus Gründen, welche mit unserem Versuch in keinerlei Zusammenhang stehen, höher als all die Jahre zuvor war, nicht die geringste Beeinträchtigung des Sömmerungsertrages herauslesen lässt, auch waren die im Herbst gefangenen Fische normal gewachsen und kräftig. Dazu ist jedoch zu bemerken, dass diese Zahlen das Aufzuchtergebnis der vollen Länge des eine Fläche von 860 m² bedeckenden Krümbelgrabens wiedergeben, wovon unsere Versuchsstrecke nur rund 11% ausmachte. Daraus jedoch zu schliessen, dass das Gewässer als Fischwasser überhaupt nicht gelitten hatte, wäre aber falsch. Unser Versuch führte im Gegenteil zu einer erheblichen Verminderung der Ernährungsbasis der Fische. Diese Schädigung war aber zeitlich ziemlich eng begrenzt, denn unsere Beobachtungen zeigten, dass die Wiederbesiedlung sofort nach Abfluss der Giftwelle einsetzte.

Verallgemeinernd darf man deshalb wohl annehmen, dass die Folgen einer durch akute Vergiftung bewirkten Schädigung der Kleinfafauna eines Fliessgewässers innerhalb verhältnismässig kurzer Zeit wieder verschwinden, soweit dies jahreszeitlich im Hinblick auf die Entwicklungszyklen der einzelnen Arten möglich ist. Die Behauptung, dass ein Gewässer durch eine Vergiftung wegen der Abtötung der Nährfauna auf Jahre hinaus „erledigt“ sei, wie dies in Fischerkreisen immer wieder zu hören ist, dürfte demnach zum mindesten für unsere Mittellandfliessgewässer deutlich widerlegt sein.

N^o 12. **Hans Wackernagel**, Basel. — Versuch einer zeitgemässen Zootierernährung.

Es ist die Pflicht eines Tiergärtners, in den Methoden der Tierhaltung mit den wissenschaftlichen Erkenntnissen seiner Zeit schrittzuhalten. Unter diesen Erkenntnissen spielen diejenigen der Ernährungslehre eine hervorragende Rolle.

Es ist in jüngerer Zeit immer deutlicher geworden, welch enge Beziehungen zwischen Ernährung und Gesundheitszustand bestehen und es unterliegt keinem Zweifel, dass ein grosser Teil des Erfolges in der Tierhaltung von der Fütterung abhängt.

Wesentliche Einsichten der Ernährungsforschung sind für die Praxis reif geworden und es bieten sich dem Tiergärtner reiche Möglichkeiten, diese zum Vorteil seiner Pfleglinge anzuwenden.

Die Ernährungsbedürfnisse des Menschen und vieler Haustiere sind heute so gut bekannt, dass Mangelercheinungen, ausgenommen vielleicht in ihren subtileren Formen, vermieden werden können. Es besteht auch kein Zweifel, dass von den Bedürfnissen des Menschen und der Haustiere auf diejenigen der Wildtiere geschlossen werden darf.

Die neuzeitliche Wissenschaft der Ernährung hat den wertvollen Begriff der „vollkommenen Ration“ eingeführt.

Die Aufgabe eines Tiergärtners liegt unseres Erachtens nun darin, danach zu trachten, an alle Tiere in seiner Obhut eine solche vollkommene oder vollwertige Ration zu verabreichen.

In einem kurzen Überblick wollen wir uns der lebensnotwendigen, essentiellen Nahrungsbestandteile erinnern. Diese sind:

1. Das Wasser, als anorganischer Hauptbestandteil des Tierkörpers.
2. Das Eiweiss, als wichtigster Baustoff der lebendigen Substanz, der aber auch als Energielieferant dient. Es muss in ausreichender Menge und in richtiger Art dargeboten werden.
3. Die Kohlenhydrate und Fette, als wesentliche Lieferanten von Energie und Vorratsstoffen. Unter den Nahr-

ungsfetten müssen solche mit gewissen lebensnotwendigen Fettsäuren vorhanden sein.

4. Die Mineralstoffe, als anorganische Baustoffe, als Grundlage für den erforderlichen physikalisch-chemischen Zustand der Zellen und Körperflüssigkeiten und als Bausteine von komplizierten Verbindungen wie z.B. Haemoglobin, Fermente und Hormone. Sie müssen ausreichend nach Menge, Art und Mengenverhältnis geboten werden.
5. Die Vitamine als Wirkstoffe bei den Lebensvorgängen; auch sie müssen ausreichend nach Menge und Art vorhanden sein.

Eine Ration, welche alle lebensnotwendigen Bestandteile in optimaler Menge und Art enthält, wird als vollkommen bezeichnet. Fehlt aber nur ein einziger der lebensnotwendigen Stoffe oder ist er in zu geringer Menge in der Ration vorhanden, so ist die Ration unterwertig. Unterwertige Rationen führen nach kürzerer oder längerer Zeit zu Schädigungen, die irreparabel werden können. Beispiele solcher Schädigungen sind Fortpflanzungsstörungen, Rachitis, Osteomalacie, manche Formen von Lahmheit und Schwäche und Verdauungsstörungen. Ferner aber auch vorzeitiges Altern, geringe Resistenz gegen Infektionen durch Bakterien und Parasiten, schlechtes Haarkleid oder Gefieder usw.

Freilich gibt es auch andere Ursachen für diese Krankheitserscheinungen als eine unterwertige Ernährung. Aber ein Blick auf die Haltungsbedingungen und die verabreichte Kost verhindert in der Regel eine Verwechslung.

Wenn der Tiergärtner nun versucht, der genannten Forderung nach vollkommenen Rationen in seiner Fütterungspraxis nachzukommen, so kommen ihm zwei wichtige Umstände entgegen.

1. Die Ansprüche, die alle Tiere an ihre Ernährung stellen, sind von überraschender Einförmigkeit. Von den Protozoen bis zu den Säugetieren finden wir als Nährstoffe immer dieselben: Eiweiss, Kohlenhydrate und Fette. Wir finden von diesem Gesetz, denn ein solches ist es, nur scheinbare Ausnahmen. So sind beispielsweise die Wiederkäuer nachweislich im Stande, einen Teil ihres Eiweissbedarfs durch N-haltige Stoffe zu decken, die wie der Harnstoff wesentlich tiefer als Eiweiss stehen. Dies ist dadurch

möglich, dass die im Pansen lebenden Bakterien den Harnstoff zu Bakterieneiweiss synthetisieren, welches seinerseits dem Wiederkäuer als Nahrung dient.

Auch der Vitaminbedarf ist bei den verschiedensten Tieren, wenn auch nicht identisch, so doch sehr ähnlich. Ausnahmen bestehen nur insofern, als Tiere mit symbiontischen Bakterien mehr oder weniger unabhängig vom Gehalt ihrer Nahrung an B-Vitaminen sind. Ferner bildet das Vitamin C insoweit eine Ausnahme, als es die meisten Tiere nicht benötigen. Unter den Mammalia sind nur der Mensch, die Affen, das Meerschweinchen und das Murmeltier auf die Zufuhr von Vitamin C angewiesen. Die andern Arten stellen es selbst her.

Auch im Mineralstoffwechsel der Tiere findet sich eine grundlegende Übereinstimmung. Bei allen Wirbeltieren ist er nahezu identisch.

2. Der andere Umstand, der das Planen von Rationen ganz allgemein erleichtert ist die Tatsache, dass der Organismus in einem relativ breiten Bereich in ein Stoffwechselgleichgewicht kommen kann. Mit andern Worten ausgedrückt: Die Anpassungsfähigkeit der Tiere ist beträchtlich und die Vielseitigkeit in ihrem Vermögen, die Nährstoffe zu verwenden, gewährt uns einen weiten Spielraum für die Zusammensetzung der Nahrung.

Welche Grundsätze leiten uns nun weiterhin bei der praktischen Planung von vollkommenen Rationen ?

Man weiss, dass es für den Körper von Vorteil ist, wenn jede Mahlzeit in sich ausgewogen und vollwertig ist. Für gutes Wachstum ist es beispielsweise notwendig, dass alle essentiellen Aminosäuren gleichzeitig vorliegen. Ähnliches gilt auch für die andern Nahrungsbestandteile. Die moderne Fütterungspraxis hat deshalb die Tendenz, möglichst reichhaltige Mischfutter zu verwenden. Komplexe Mischungen sind hinsichtlich einzelner Nahrungselemente ausgeglichener als Einzelfutter und haben überdies den Vorteil, bekömmlicher und schmackhafter zu sein.

Das im Basler Zoologischen Garten neuerdings in der Tierfütterung angewandte Prinzip kann nun wie folgt zusammengefasst werden:

Essentielle Nahrungsbestandteile müssen geeigneten Futtermischungen einverleibt werden und die Tiere müssen dazu erzogen

werden, sie anzunehmen; dann ist das Risiko von Fütterungsfehlern gering.

Vielleicht ist es gut, kurz darauf einzugehen, warum hier das Wort „erziehen“ gebraucht wurde. Wir haben ja eben gesagt, dass eine gemischte Kost in der Regel schmackhaft ist. In der Tat werden auch die meisten Tiere eine neue Ration, die zu ihrem Vorteil ausgearbeitet wurde, ohne weiteres annehmen. In manchen Fällen erscheint es aber angezeigt, ihren Appetit anzuregen, mit andern Worten, sie ein bisschen hungrig werden zu lassen, um die Umstellung zu vollziehen. Wenn eine neue Ration nicht auf Anhieb gefressen wird, ist das noch lange kein Kriterium dafür, dass sie auch nicht gut sei. Hier spielt die Tendenz, am Gewohnten festzuhalten, eine Rolle. Illustrationen für dieses Verhalten lassen sich auch aus dem Bereich der menschlichen Nahrungsgebräuche beibringen.

Die praktische Durchführung des oben skizzierten Fütterungsprogramms gestaltet sich einfacher als vielleicht angenommen werden könnte. Die scheinbar sehr vielfältigen Ansprüche der Zoo-Tiere können mit wenigen Einheits-Futtermischungen befriedigt werden. Die grosse Mehrheit der Insassen eines Zoologischen Gartens lässt sich einteilen in Omnivore, Herbivore und Carnivore; zwei weitere Gruppen sind die sogenannten Fischfresser und die meist nur in geringer Zahl vertretenen Insektivoren unter den Säugern wie z.B. Erdferkel, Ameisenbär und Schnabeligel. Unter den Vögeln lässt sich das grössere Geflügel wie Gänsevögel, Hühnerartige und Kraniche gesondert behandeln, während die grosse Schar der sogenannten Käfigvögel wiederum als Einheit berücksichtigt werden kann. Bei ihnen müssen nur die mehr carnivoren beziehungsweise granivoren Neigungen beachtet werden.

Wir erstreben Mischungen, die neben allen essentiellen Nahrungsstoffen vor allem einen hohen, optimalen Eiweissgehalt aufweisen. Die genauen Formeln, die zum Teil noch kleinen, laufenden Modifikationen unterworfen sind, sollen in einer späteren Publikation behandelt werden.

Bei den Omnivoren wurde ein feuchter „Kuchen“ und ein zu trockenen Presslingen verarbeitetes Mischfutter eingeführt. Der „Kuchen“ wird im wesentlichen nach dem Rezept des Zoologischen Gartens von Philadelphia hergestellt und ist vor allem für die Affen bestimmt. Er enthält gemahlene Getreidearten, Oelkuchen,

Luzernemehl, Hefe, Vollmilchpulver, gekochtes, durchgedrehtes Fleisch, Minerale und Vitamine, die mit Fleischbrühe angefeuchtet werden. Er wird nicht gebacken und müsste eigentlich als Teig bezeichnet werden. Die trockenen Presslinge, eine Modifikation eines handelsüblichen Hundefutters, enthalten Zwiebackmehl, Getreideflocken, Kartoffelflocken, Johannisbrot, Zuckerrübenschnitzel, Magermilchpulver, Fischmehl, Fleischmehl, Hefe, Weizenkeime, Minerale und Vitamine und werden den Bären und Schweinen und in Kombination mit den für die Herbivoren entworfenen Presslingen den Stachelschweinen und Biberratten verabreicht. Diese beiden genannten Rationen sind Kraftfutter und bedürfen der Ergänzung durch frisches Obst und Gemüse.

Für alle Herbivoren: die Ungulaten und Pflanzenfresser wie Känguruh und Wasserschwein wurde als Kraftfutter wiederum ein Pressling ausgearbeitet. Er ist die Modifikation eines schweizerischen Milchviehfutters und enthält verschiedene Getreidearten, Extraktionsschrote, Leinkuchenmehl, Luzernemehl, Johannisbrot, Minerale und Vitamine und wird neben Karotten oder Heu, bezw. Gras, verabreicht.

Für die Carnivoren, die ja in der Natur in der Regel ganze Beutetiere verzehren, wurde ein sogenannter Fleischzusatz entworfen, der das im Zoo verfütterte Muskelfleisch ergänzen soll. Er ist aus Magermilchpulver, Hefe und einer Mineral-Vitaminmischung zusammengesetzt und soll Eingeweide, Drüsenorgane und Knochen der Beutetiere ersetzen. Er wird den Fleischstücken aufgestreut oder dem Hackfleisch beigemischt.

Seelöwen und Pinguine sind die hauptsächlichsten Fischfresser im Zoo. Ihre Ration wird durch einen sogenannten Fischzusatz bereichert, der ähnlich wie der Fleischzusatz gestaltet ist, aber zusätzlich noch Luzernemehl und Weizenkeime enthält. Fleisch- und Fischzusatz sind als Eiweiss-Mineral-Vitaminkonzentrate anzusprechen und besitzen zweifellos wesentliche Ergänzungseigenschaften.

Für die Insectivoren dürfte sich eine Mischung von Kuchen, Hackfleisch mit Fleischzusatz und Milch eignen.

Bei den Käfigvögeln dient ein Weichfutter als Grundration, das zur Hälfte aus der auch für den Kuchen verwendeten trockenen Mischung besteht. Die andere Hälfte wird von durchgedrehtem, gekochtem Fleisch, gemahlenen Karotten und gemahlenen, gekoch-

ten Eiern mit Schalen gebildet. Dazu kommt noch ein Vitamin-konzentrat, das auch eine prophylaktische Dosis eines Antibiotikums enthält. Dieses Grundfutter wird durch frisches Hackfleisch mit Fleischzusatz oder durch gemischte Körner und Samen ergänzt, je nach dem ökologischen Typus des Konsumenten. Für das grössere Parkgeflügel hat sich ein landesübliches Legehennenfutter in Form von Presslingen bestens bewährt.

Dies ist eine knappe Übersicht über die im Basler Zoologischen Garten seit etwa Jahresfrist eingeführten Kostformen. Mit ihrer Hilfe hoffen wir, Mangelercheinungen erfolgreich zu bekämpfen und die Kondition der Tiere im allgemeinen zu heben. Die Erfahrungen des ersten Jahres lassen eine solche Hoffnung nicht als unbegründet erscheinen.

Herrn Dr. H. JUCKER, Ing.-Agr., Institut für Haustierernährung der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich, sei für wertvolle Ratschläge gedankt.

LITERATUR

- RATCLIFFE, H. L. 1956. *Adequate Diets for Captive Wild Animals*. Bull. Penrose Research Lab. Zool. Soc. Philadelphia.
-

N° 13. **Anne M. Du Bois**, Genève. — Altérations provoquées chez le fœtus de cobaye par l'injection d'alloxane à la femelle gravide.

(Institut d'Histologie et d'Embryologie, Ecole de Médecine, Genève.)

Les lésions de divers organes, que l'on constate chez un fœtus après injection à la femelle gravide d'un agent toxique quelconque, peuvent être classées en deux catégories distinctes. Si les lésions sont non spécifiques, elles sont généralement inhérentes à des processus morbides locaux résultant du mauvais fonctionnement

des échanges au niveau d'un placenta altéré par l'agent toxique, mais ce dernier n'a vraisemblablement pas passé dans la circulation fœtale. Au contraire, si les lésions sont spécifiques, c'est-à-dire si elles sont analogues à celles produites par l'agent toxique dans l'organisme de l'animal adulte, on peut en déduire, que l'agent toxique a passé la barrière placentaire et qu'il est entré dans la circulation fœtale.

L'injection intracardiaque de 200 mg/kg d'alloxane à la femelle de cobaye gravide provoque en quelques heures des lésions plus ou moins graves du placenta: 1) désagrégation du réseau plasmodial, dans lequel circule le sang maternel, par élimination de gouttelettes de cytoplasme qui oblitèrent les mailles du réseau et ralentissent la circulation maternelle; 2) phagocytose des travées plasmodiales altérées par les leucocytes du sang maternel, aboutissant à 3) formation de zones nécrotiques plus ou moins vastes détruisant les vaisseaux fœtaux. Dans ce dernier cas, le mélange du sang maternel et fœtal conduit rapidement à l'avortement du fœtus (Du Bois 1957).

Lorsque les lésions placentaires n'ont pas dépassé le stade 2), on constate chez le fœtus des lésions de divers organes; nous ne nous occuperons ici que des lésions hépatiques et de celles des îlots endocriniens du pancréas.

On sait que chez les animaux de laboratoire l'alloxane (ou ses dérivés, car l'alloxane est rapidement modifiée dans l'organisme) détruit d'une manière tout à fait sélective les cellules B productrices d'insuline des îlots endocrines du pancréas, provoquant ainsi l'apparition d'un diabète alloxanique durable. L'alloxane est sans effet sur les cellules A productrices de glucagon. Le cobaye seul est considéré comme réfractaire à l'action de l'alloxane, car il ne présente ni glycosurie, ni glycémie (v. la mise au point sur le diabète alloxanique, de P. DE MOOR, 1953).

Toutefois, nos recherches (Du Bois, 1957) ont abouti à un résultat assez différent: les îlots du cobaye réagissent normalement à l'alloxane, mais beaucoup plus rapidement que chez les autres animaux; une seule injection intracardiaque de 200 mg/kg d'alloxane provoque une pycnose généralisée des cellules B des îlots, 6-14 h. après l'injection; mais dès 18-20 heures après l'injection, des processus de régénération intense à partir des acini exocrines bordant l'îlot dégénéré rétablissent rapidement la structure normale des îlots (48-54 heures après l'injection). Chez le rat, par exemple, FALLER

(1955) a montré que la régénération des cellules B débute lentement 5-6 mois après injection d'alloxane seulement.

Dans le foie de l'adulte (Du Bois, 1954), l'alloxane provoque également des lésions très caractéristiques, en 2-3 heures: 1) destruction des endothéliums des capillaires du lobule hépatique, débutant dans la zone périportale; 2) vacuolisation aqueuse des cellules hépatiques; puis 3) lyse massive des cellules hépatiques altérées aboutissant à la formation de grandes cavités nécrotiques irrégulières remplies de sang extravasé contenant de nombreux phagocytes. 12 heures après l'injection, le « foie alloxanique » est tout à fait spongieux. Ici encore, des processus de régénération rapides interviennent et les cavernes nécrotiques sont comblées en 48 à 72 heures; les cellules hépatiques saines en bordure de la lésion se multiplient rapidement par mitoses et le réseau capillaire est rétabli par bourgeonnement conjonctivo-vasculaire à partir des espaces périportaux intacts.

Après l'injection d'alloxane à la femelle gravide, 63 foetus sur 70 (provenant de 27 portées d'âge variant de 30 jours à la mise bas, 68^e jour) ont présenté des lésions hépatiques plus ou moins étendues: disparition des endothéliums, lyse des cellules hépatiques aboutissant à la formation des cavités nécrotiques. L'importance des lésions est extrêmement variable et ne semble pas liée à l'âge du foetus, mais les foetus d'une même portée présentent approximativement des lésions hépatiques de même gravité.

En ce qui concerne les îlots pancréatiques leur développement chez le foetus de cobaye s'effectue en trois étapes: 1) différenciation des cellules A (emb. 13 mm. 25^e jour) puis B (emb. 27 mm. 34^e jour) dans l'épithélium de la paroi des canalicules pancréatiques; 2) formation à partir des bourgeons de cellules endocrines d'îlots primitifs dits « îlots à manteau » (58-60 mm. 43^e jour) constitués par une coque de cellule A entourant un complexe plasmodial B; 3) transformation des îlots à manteau en îlots définitifs (75 mm. 50-51^e jour) par dissociation de la coque de cellules A par suite de la multiplication rapide des cellules B.

Chez les foetus jeunes (avant le 50^e jour de la gestation), l'alloxane injectée à la mère est sans effet sur les cellules B en voie de différenciation ou sur le complexe plasmodial B inséré dans les îlots à manteau. Par contre, chez les foetus âgés (après le 50^e jour) chez lesquels les îlots ont acquis leur structure définitive, l'alloxane

injectée à la mère déclenche la pycnose spécifique des cellules B des îlots foetaux. Il semble donc que les cellules B doivent atteindre un certain « degré de maturité » pour que leur sensibilité spécifique à l'alloxane soit réalisée.

Les lésions hépatiques foetales et surtout les altérations spécifiques des cellules B des îlots pancréatiques des fœtus âgés montrent que la barrière placentaire ne s'oppose pas au passage de l'alloxane, du sang maternel dans le sang fœtal.

BIBLIOGRAPHIE

- Du Bois, A. M. 1954. *Action de l'intoxication alloxanique sur le foie de Cobaye*. Z. Zellforsch. 40:585.
 — 1957. *Intoxication alloxanique chez la femelle de Cobaye gravide. Effets sur la mère et le fœtus*. Sous presse.
 — et S. DUCOMMUN. 1955. *Développement et teneur en glycogène du placenta de Cobaye*. Rev. suisse Zool. 62: 418.
 FALLER, A. 1955. *Les phénomènes de régénération cellulaire pancréatique dans les diabètes chroniques par l'alloxane et l'acide dialurique*. Rev. intern. hépatologie 5: 215.
 FERNER, H. 1952. *Das Inselsystem des Pankreas*. G. Thieme Verlag. Stuttgart.
 P. DE MOOR. 1953. *Le diabète alloxanique*. Masson, 1953.

N° 14. **D. Rosenbusch-Weihs** et **K. Ponse**, Genève. —
 Actions rapides et lointaines de l'hypophysectomie
 chez le cobaye¹.

L'hypophysectomie du Cobaye présente certaines particularités plus difficiles à surmonter que pour d'autres animaux servant aux expériences. C'est pourquoi nous avons jugé utile de relater ici

¹ Ces expériences ont pu être faites dans le cadre d'une recherche générale sur la fonction androgène de l'ovaire grâce à des subventions du Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique, à l'hospitalité de la Station de zoologie expérimentale, directeur professeur E. GUYÉNOT, et à la direction scientifique des professeurs K. PONSE (Genève) et M. F. JAYLE (Sorbonne, Paris).

brièvement quelques perfectionnements apportés à la technique opératoire.

1. L'anesthésie doit être faite à l'éther frais, conservé à la glacière, et non à la morphine-chloral ou à l'invertine.

L'amélioration essentielle a été la trachéotomie, pratiquée assez souvent chez les Rats. On adapte à la forme de la tête du Cobaye une canule coudée et recourbée qui plonge dans un petit flacon muni d'un tampon de coton imbibé d'éther: ainsi on évite tout danger d'obstruction des voies respiratoires par les mucosités nasales ou les vomissements; même si les réflexes respiratoires cessent momentanément par compression du nerf laryngé, l'éther continue à exercer son action sur les poumons. C'est là un progrès sensible sur les méthodes d'anesthésie par injections intrapéritonéales, complétées par un masque d'éther.

2. Il faut que la tête du Cobaye repose dans un moule en plâtre adapté à sa taille et dont l'inclinaison permet une bonne approche opératoire.

3. Après s'être frayé rapidement la voie d'accès jusqu'à la base du crâne, sous le larynx, on place un entonnoir (écarteur nasal), muni de denticules à son extrémité étroite, qui sert à triple fin: comme écarteur, comme antidérapant lorsqu'on trépane et comme protecteur du trépan, ce qui évite tout entraînement de tissus par le mouvement giratoire du trépan.

4. L'aspiration de l'hypophyse au moyen d'une canule reliée à un flacon intermédiaire, puis au vide (trompe à eau) reste toujours encore le temps crucial de l'intervention, puisqu'un tiers seulement de la glande est dénudé après trépanation du sphénoïde et déchirure de la dure mère transparente. De plus les veines capsulaires fixent fortement les bords latéraux de la glande au sinus coronaire. L'écartement faible des deux branches droite et gauche de ce sinus limite forcément la grandeur du trou de trépanation. Le danger principal est sa lésion entraînant une forte hémorragie. La succion doit être réglée par la pression du doigt sur un orifice pratiqué dans la partie coudée de la canule, qui doit avoir un calibre exactement adapté à celui du trou de trépanation.

Le recueil de l'hypophyse aspirée, entière ou par fragments, dans un flacon intermédiaire, nous paraît une première garantie pour l'examen de l'intégrité de l'ablation, tandis que le prélèvement par

petites succions successives avec départ direct des fragments dans la canalisation du vide nous semble une méthode défectueuse.

5. Néanmoins, une vérification très serrée à l'autopsie est de rigueur, et nous rejoignons ici l'opinion de MORICARD à ce sujet. En effet, la tige recouverte par la portion supra-sellaire de la *pars tuberalis* reste forcément en place dans les opérations correctes, lorsque la tente membraneuse de la dépression hypophysaire reste

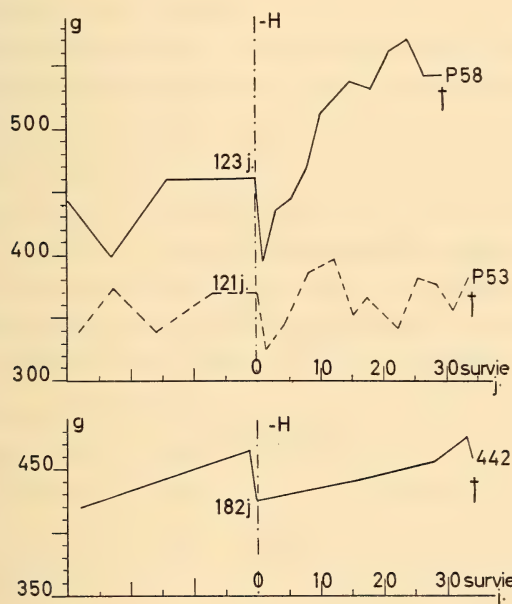


FIG. 1.

Courbes de poids comparées de femelles de Cobayes hypophysectomisées:

P 58: nourrie avec le mélange de la Pallanterie (excès de vitamines B6, B12; Terramycine; autres facteurs de croissance ?).

P 53: Femelle de même âge, hypophysectomisée en même temps, nourrie normalement.

442: Même nourriture que P. 53; présence d'un reliquat.

intacte. Nous avons toujours prélevé et coupé le moignon rétracté de cette tige à l'autopsie, mais il ne semble pas, dans la majorité des cas, que cette fraction de *pars tuberalis* ait pu exercer une action gonadotrope après ou sans traitements subséquents.

Cependant, en pratiquant des décalcifications de la base du crâne et des coupes sériées, nous avons plusieurs fois retrouvé des quantités importantes de *pars tuberalis* et même de *pars distalis*.

6. L'examen de la courbe de poids des opérés, si précieuse dans la majorité des cas pour les jeunes Rats, n'est pas un critère suffisant pour le Cobaye. Même si elle fluctue autour d'un plateau après l'opération, il peut y avoir des reliquats et, d'autre part, même si elle monte en flèche, cela ne prouve pas l'existence d'un tel résidu.

En effet, des lésions hypothalamiques dues à une aspiration trop brutale, peuvent déclencher une obésité diencéphalique et, d'autre part, un régime non approprié peut faire monter la courbe de poids d'une façon surprenante en l'absence de tissu hypophysaire: c'est à nos dépens que nous en avons fait l'expérience avec une nourriture préparée au Moulin de la Pallanterie et qui contient beaucoup trop de vitamines (B 6, B 12, etc.) des antibiotiques (terramycine) et un facteur de croissance nouveau, étudié par la firme Labaz actuellement, et que les éleveurs ajoutent dans leur mélange pour faire engraisser leur volaille.

Il va de soi que les soins postopératoires sont importants: (sulfostérane dans la plaie musculaire pour éviter des infections), température constante ($\pm 20^\circ$), injections de glucose à 5% et nourriture abondante.

Le choix des animaux pour des expériences de plusieurs semaines est très important: trop jeunes ils résistent mal; trop âgés la trépanation et la succion présentent plus de difficultés. Un poids moyen de 400-500 gr nous a paru avantageux.

De plus, la connaissance exacte de leur âge (sensibilité hypophysaire), des durées de leurs cycles, de la normalité de ceux-ci vérifiée sur frottis vaginaux, et du moment du cycle par rapport au jour de l'hypophysectomie sont des données indispensables: nous le verrons en particulier pour la question de la persistance des corps jaunes après l'opération.

Des mesures métaboliques devant être effectuées après l'hypophysectomie, il faut connaître la norme de leur élimination urinaire avant l'intervention et, pour cela, adapter les femelles aux cages à métabolisme et effectuer les prises d'urines à des moments déterminés du cycle. Il faut ensuite opérer les femelles et faire de nouvelles prises aussi vite que possible (4^e-10^e jour), puis au cours des semaines suivantes. Bien souvent la mort intervient trop tôt, et alors un gros travail préliminaire d'observations et de dosages semble perdu.

Néanmoins ces morts prématurées nous ont permis de fixer nos idées au sujet de la rapidité étonnante de certaines réactions à l'opération; observations précieuses qui ont permis d'autres développements.

Le nombre total de femelles de Cobayes hypophysectomisées à été de 121; 51 ♀ ont survécu de 1 à 10 jours, 70 ♀ ont survécu plus de 10 jours.

La mortalité totale est de 28% entre le 1^{er} et le 4^e jour, après quoi elle devient négligeable.

Il faut avouer que même dans les meilleures conditions techniques (éclairage plongeant fixé à un bon binoculaire, appareil à trépaner articulé, souple et maniable), l'opération reste difficile, et qu'à chaque nouvelle série, l'opérateur doit se « refaire la main ».

Enfin il est des saisons néfastes à l'expérimentation: premiers froids, herbe mouillée, passage d'une nourriture verte à base d'herbe et de pissenlits à l'alimentation d'hiver (son, betteraves, graines); en hiver l'addition d'une dose déterminée de vitamine C est absolument indispensable si l'on ne veut pas fausser les dosages.

EXAMENS DES RÉSULTATS.

I. Techniques.

En dehors des pesées de l'animal, des organes (poids absolus et poids relatifs en mg-%), de l'observation des ouvertures vaginales et des mamelons, des coupes sériées de la quasi totalité des deux ovaires sont nécessaires pour exclure ou préciser l'existence d'un corps jaune.

Des examens de l'état histologique du vagin, des cornes utérines, des thyroïdes et des surrénales ont été effectués après coloration à l'hémalum-éosine, azan et mucicarmin.

Les ovaires, surrénales, cornes utérines ont été étudiés en outre sur coupes à la congélation colorées au Rouge Soudan, à la réaction du Schultze (cholestérol et précurseur des stéroïdes) et à la réaction du Plasmal (lipides en catabolisme ou anabolisme).

II.

Nous nous sommes attachés avant tout:

- a) à l'étude de la rapidité et du degré de l'atrésie folliculaire ovarienne;

- b) au degré d'aplasie du tractus génital;
- c) à la réaction lipidique liée à la stéroïdogénèse;
- d) à l'atrophie des thyroïdes et des surrénales;

Il faut remarquer que la surrénale régresse lentement, conserve une zone lipidique active quoique réduite, et qu'elle assure la survie de l'animal. Elle sécrète encore des stéroïdes dont la quantité ne tombe pas à zéro (17-cétostéroïdes et GBS), ce qui explique l'absence d'aplasie totale du système génital.

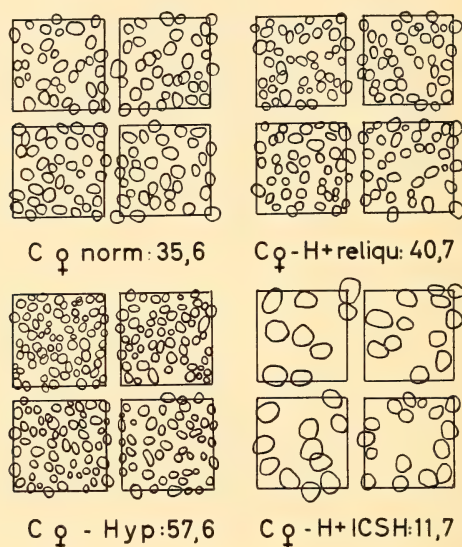


FIG. 2.

Index nucléaire du tissu théco-interstitiel selon Guyénot.

a) *Atrésie ovarienne.*

Au cours de ces examens, l'étude de l'index nucléaire moyen du tissu théco-interstitiel ovarien selon GUYÉNOT (1946), nous a rendu les plus grands services et nous paraît être la pierre de touche de tous nos résultats, avec, de plus, une sensibilité exquise, qui permet des réactions très rapides et des diagnostics précis.

Il s'agit de compter le nombre moyen de tous les noyaux dessinés à un grossissement fixe à la chambre claire, sur 12 carrés de 3 cm de côté dans plusieurs coupes différentes des deux ovaires.

Ce nombre est inversement proportionnel à la taille, c'est-à-dire à l'activité des cellules — et directement parallèle à leur degré de ratatinement, d'atrophie cellulaire consécutive à l'hypophysectomie.

Le nombre moyen normal est de ± 36 . Après hypophysectomie il monte au dessus de 42 en 24 heures et atteint 55 — 62 en plus de 3 semaines, tandis que l'index est intermédiaire lorsqu'il y a un petit reliquat hypophysaire (40,7 après 4 semaines chez la femelle 442), — et baisse en dessous de 30, un à deux jours après injections gonadotropes LH, pour plonger à 20 et à 15 en une semaine au cours des traitements, jusqu'à ce que l'accoutumance à l'hormone injectée le fasse remonter quelque peu (18 à 24).

Nous estimons que l'étude de l'index nucléaire doit obligatoirement accompagner toute étude sur l'activité hypophysaire.

b) *Vagin et cornes utérines.*

L'orifice vaginal reste fermé, sauf si l'on a hypophysectomisé l'animal juste à la veille d'un cycle: on peut alors observer un point douteux indiquant un début de pro-oestre.

L'épithélium du vagin retourne au di-oestre, mais les figures d'aplasie exagérée nous paraissent être des conséquences d'autopsies *post-mortem*: la quantité de stéroïdes corticosurrénaux persistants nous semble exclure une régression totale. Dans de rares cas, quelques cellules caliciformes muqueuses ou une légère réaction mucifiée générale signalent la présence d'un reliquat, même très petit.

Remarquons qu'il faut nettement distinguer cette réaction tardive et lointaine d'une mucification variable mais incontestable et transitoire signalée déjà par GUYÉNOT-HELD-PONSE (1938), entre le 4^e et le 11^e jour après l'hypophysectomie et qui correspond à une nette élévation des oestroïdes urinaires (ou stéroïdes Kober positifs) observée par M. F. JAYLE dans l'urine de ces Cobayes non traités: nous pensons qu'il s'agit d'une décharge sanguine des *liquor folliculi* des follicules détruits par atrésie massive à la suite de l'hypophysectomie.

Les cornes utérines aplaties et peu vascularisées régressent mais dans des proportions variables selon l'âge de la femelle. Leur état histologique est un di-oestre exagéré, sauf en ce qui concerne une

certaine activité sécrétoire faible des glandes, retrouvée chez les castrats (activité corticosurrénalienne?).

Les mamelons sont toujours très petits et flasques, la glande mammaire involuée, le clitoris atrophié.

c) *Thyroïdes et surrénales.*

Les thyroïdes régressent plus lentement et leurs réactions pondérales sont trop variables dans les conditions de notre élevage: seule compte la mise au repos de l'épithélium et de la colloïde selon les données classiques. Si les points de départ n'ont pas été trop élevés, on peut dire que le poids relatif des thyroïdes tombe à 5-10 mg% après la deuxième semaine.

Les surrénales régressent encore plus lentement et leur poids relatif tombe à 35-57 mg% (65% pour les normales). Mais si ce chiffre excède 47% on peut soupçonner — ou bien l'on trouve — un reliquat préhypophysaire. Leur turgescence se perd, la paroi s'affaisse, parallèlement à la délipidation et à la mise au repos des couches de la fasciculée externe qui viennent grossir la glomérulée et s'ajoutent à l'hyperplasie de la capsule conjonctive externe.

d) *Décharge très rapide des lipides soudanophiles.*

Cette décharge dans l'ovaire et les cornes utérines est à signaler et marche de pair avec les réactions de Schultze et plasmales atténuées puis négatives. Il faut au contraire se rappeler, qu'en cas d'accoutumance aux injections gonadotropes LH, il y a recharge du tissu théco-interstitiel d'atrésie grâce à une stimulation directe de celui-ci.

La délipidation des surrénales est beaucoup plus lente et partielle comparée à celle de l'ovaire. Cependant, si au bout de 3 à 4 semaines la couche lipidique n'est pas réduite à une mince bande de la fasciculée externe, si celle-ci présente des « épines lipidiques centripètes » on peut fortement soupçonner une ablation incomplète de l'hypophyse, parallèle à un pourcentage relatif trop élevé des surrénales (47% au lieu de 33 à 41%).

III. *Persistence de corps jaunes chez l'animal hypophysectomisé.*

Si l'on a dès longtemps signalé la persistance de gros corps jaunes turgescents chez les Rats hypophysoprives et leur disparition très rapide lors d'injections d'hormones gonadotropes LH (GREEP),

les auteurs ayant travaillé sur le Cobaye ne les signalent pas. Nous avons par conséquent été surpris de constater leur persistance prolongée chez 7 sur 10 Cobayes totalement hypophysectomisés depuis plus de 4 semaines, et davantage, dans les expériences de courte durée. En tenant compte du jour du cycle à l'opération, nous avons même des cas où le corps jaune a dû se former après l'opération. On les retrouve même 9 semaines après la dernière ovulation.



FIG. 3.

442: Persistance d'un corps jaune frais 45 jours après la dernière ouverture vaginale, très peu soudanophile, et de 4 vieux corps jaunes résiduels très soudanophiles ($\times 20$).

Sans doute présentent-ils parfois déjà des signes de dégénérescence, mais dans quelques cas ils ont encore un aspect très actif: turgescents et éosinophiles, avec peu de lipides fins.

C'est alors que les dosages des métabolites des corps jaunes donnent des indications inattendues et précieuses, et ont même

permis de dépister une activité lutéale de tumeurs ovariennes intrafolliculaires, de type syncytio-trophoblaste, comme nous en avons publié 5 cas et dont nous venons de retrouver 3 autres.

CONCLUSIONS.

Avec une bonne technique, une nourriture appropriée, nous sommes à même aujourd'hui d'étudier les résultats rapides ou à long terme d'hypophysectomies de Cobayes, ce qui nous a permis d'aborder avec fruit le problème de la virilisation paradoxale sous l'influence des gonadotropines choriales, confirmant en tous points les résultats obtenus par K. Ponse sur les Rats. Enfin ceci nous a permis l'étude biochimique des réactions par les dosages des métabolites urinaires, but essentiel que s'était proposé K. Ponse.

AUTEURS CITÉS

- GREEP, R. O. and J. Ch. JONES. 1950. *Steroid control of pituitary function*. Recent progress in Hormone Research. 5: 197-261.
- GUYENOT, E. 1946. *Les deux actions gonadotropes de l'urine de femme enceinte*. Rev. suisse Zool. 53: 1-120.
- E. HELD et K. PONSE. 1938. *Action auxogène pure d'une urine de femme ovariectomisée*. Arch. Anat. Histol. et Embryol. 26: 289-345.
- MORICARD, R. 1947. *De la formation du 1^{er} globule polaire après hypophysectomie incomplète, fonction de la pars tuberalis, effet des gonadotrophines*. II^e congrès Français de Gynécologie, Expansion scientifique française. 199-125.
- PONSE, K., D. WEIHS, O. LIBERT et R. DOVAZ. 1954. *Trophoblastomes ovariens et leur activité endocrine chez le Cobaye*. Acta endocr. 17: 355-365.
-

N° 15. **O. Libert, R. Dovaz et M. M. Perret**, Genève. —
 Les métabolites de la progestérone (GBS) dans le
 cycle normal et après hypophysectomie chez le
 Cobaye.

(Station de Zoologie expérimentale de l'Université de Genève.)

Pour mesurer les métabolites urinaires de la progestérone chez le Cobaye, nous avons utilisé, en la modifiant légèrement pour l'adapter au cas de cet animal, la technique mise au point par M. F. JAYLE et coll. pour le dosage des stéroïdes glycuco-conjugués, extraits par le butanol en milieu alcalin. Les glycuco-conjugués

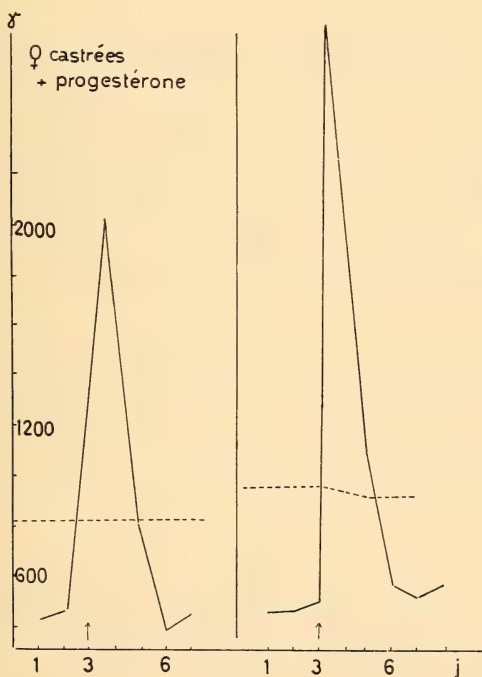


FIG. 1.

Élimination des GBS (trait plein) chez 2 femelles castrées, en γ par jour, avant et après injection intramusculaire de 20 mg de progestérone (Luto-cycline Ciba). La flèche indique le jour de l'injection. Le poids des femelles, en grammes, est en trait pointillé.

butylosolubles ainsi définis (=GBS) sont extraits des urines de Cobaye suivant une modification de la méthode primitive et selon le conseil du Professeur Jayle: après une première extraction à pH 7, le butanol est évaporé à sec et le résidu est repris par du carbonate de Na à 10% (pH 11) puis réextrait au butanol. Le dosage de l'acide glycuronique est effectué suivant la technique précédemment décrite (K. PONSE, O. LIBERT et R. DOVAZ, 1955). Cette fraction des stéroïdes urinaires contient des métabolites de la progestérone. En effet:

1. La progestérone exogène, injectée à des femelles de Cobaye castrées, est éliminée sous cette forme, comme le montre la figure 1. L'élimination des GBS passe de 400-450 gammas par jour (10 mois après castration), à 2000-2800 gammas par jour le lendemain de l'administration de 20 mg de progestérone, pour retomber ensuite en 2 jours au taux initial.

2. Nous avons déjà montré (1955) que l'on peut observer, au cours du cycle oestrien chez le Cobaye, une courbe d'élimination des GBS qui traduit l'activité lutéinique. L'étude de 2 nouveaux cycles (fig. 2) nous a permis de confirmer les résultats déjà publiés.

En particulier, le minimum d'élimination observé du 6^{me} au 8^{me} jour est constant, ainsi que la pointe nette, plus ou moins prolongée en plateau, vers le 12^{me} jour; celle-ci monte en général jusque vers 1200 à 1300 gammas par jour, pour des femelles pesant environ 500 gr. ou plus, et ayant eu plus de 3 cycles auparavant. Cette pointe est suivie d'une chute jusqu'à la veille du nouveau cycle et, après une nouvelle montée le jour de l'ouverture vaginale (moins forte que celle du 12^{me} jour), la chute reprend pour atteindre le minimum d'élimination du 6^{me} jour.

3. Nous avons défini (1955) le rapport:

$$R = \text{GBS en gammas par jour} / \text{poids de l'animal en gr.}$$

Ce rapport, calculé dans le cas de femelles normales, bien nourries, pesant 500 gr. ou plus, et ayant présenté au moins 3 cycles avant les mesures, donne les chiffres suivants (moyennes de 6 cycles, étudiés quotidiennement):

$$R \text{ minimum (6^{me}-8^{me} jour)} = 0,60-0,95 \text{ (moyenne } 0,77)$$
$$R \text{ maximum (12^{me} jour)} = 1,80-2,75 \text{ (moyenne } 2,19)$$

Ainsi, en présence de corps jaunes cycliques normaux, le rapport R dépasse toujours l'unité.

Ceci posé, nous avons étudié l'élimination de la fraction des stéroïdes urinaires glycuco-conjugués (GBS) dans le cas de Cobayes hypophysectomisés. Notre étude a porté:

1. Sur 8 femelles hypophysectomisées non traitées, pour lesquelles des dosages ont été effectués du 6^{me} au 36^{me} jour après l'opération.

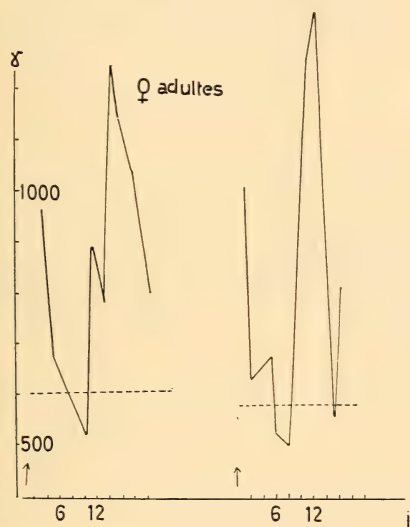


FIG. 2.

Elimination des GBS (trait plein) au cours du cycle œstrien chez 2 femelles de Cobaye normales. Le poids moyen de chaque femelle au cours du cycle envisagé est en trait pointillé.

2. Sur 17 femelles hypophysectomisées, traitées par la suite par les gonadotropines chorales, mais dont les GBS ont été dosés pendant les dix premiers jours après l'opération, avant tout traitement.

RÉSULTATS APRÈS HYPOPHYSECTOMIE.

a) Femelles non traitées, dosées du 6^{me} au 36^{me} jour après l'opération.

Ce groupe comprend:

1. Une femelle impubère et une n'ayant eu qu'un cycle avant l'opération. Nous observons dans ces cas une chute nette et pro-

gressive des GBS, qui passent de 178 gammas par jour à 78,5 gammas dans un cas, et de 360 gammas par jour à 207 gammas dans l'autre.

Le rapport tombe à 0,33 au 19^{me} jour (femelle impubère) et à 0,61 au 36^{me} jour (femelle ayant eu un cycle).

2. Les six autres femelles avaient toutes présenté plusieurs cycles avant l'hypophysectomie. L'une d'elles était aberrante et en mauvais état de nutrition; elle ne figure pas dans nos résultats. Restaient donc cinq femelles à étudier. Dans le cas de ces cinq femelles adultes, en état de nutrition normale, la chute des GBS

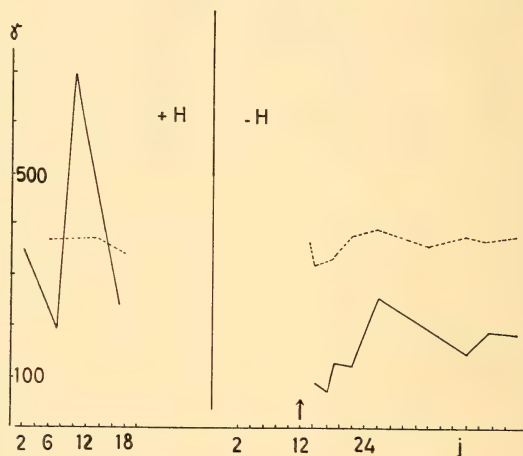


FIG. 3.

Elimination des GBS (trait plein) chez une femelle de Cobaye au cours du cycle précédent l'hypophysectomie (à gauche) et après l'opération (à droite); courbe de poids en trait pointillé.

après l'hypophysectomie est plus ou moins tardive et le plus souvent masquée par les corps jaunes présents dans l'ovaire à l'autopsie, soit persistants, soit néoformés (K. PONSE et D. ROSENBUSCH). La présence de ceux-ci se manifeste, dans 4 cas sur 5, par une montée des GBS, retardée par rapport au cycle normal, et se présentant

au 20 ^{me} jour après le dernier rut . .	R = 0,85 (N° 443)
au 24 ^{me} jour après le dernier rut . .	R = 0,67 (N° P8)
au 36 ^{me} jour après le dernier rut . .	R = 1,06 (N° 73)
au 45 ^{me} jour après le dernier rut . .	R = 0,80 (N° P53)

Le cinquième Cobaye (N° 442) n'a présenté aucune montée nette des GBS malgré la présence de corps jaunes et d'un petit reliquat de l'antéhypophyse.

A la suite de ce maximum, correspondant vraisemblablement à une activité lutéinique faible, l'élimination des GBS reprend sa chute pour atteindre finalement les chiffres suivants, en ce qui concerne le rapport R :

0,39 au 24^{me} jour-H (N° P8)
0,35 au 27^{me} jour-H (N° 442)
0,45 au 27^{me} jour-H (N° 443)
0,25 au 28^{me} jour-H (N° 73)
0,48 au 32^{me} jour-H (N° P53)

La figure 3 (n° P53) présente une courbe typique de l'élimination cyclique des GBS, avant et après l'opération.

Les corps jaunes observés à l'autopsie, jusqu'à 32 jours après l'hypophysectomie, semblent donc pouvoir sécréter de la progestérone, cependant en quantités beaucoup plus faibles qu'au cours du cycle normal.

b) *Femelles dosées dans les dix premiers jours après l'hypophysectomie, avant traitement.*

Ce groupe comprend 17 femelles ayant toutes présenté 3 à 4 ruts avant l'opération. Le poids moyen de ces femelles était, au moment de l'opération, de 470 gr. et, au moment des dosages, de 445 gr. Nous avons effectué 18 dosages sur les urines de ces femelles, après l'hypophysectomie, et nous avons construit un graphique avec ces 18 résultats, en fonction du temps écoulé depuis le dernier rut. En effet, nous nous sommes aperçu que la date du cycle précédent est le facteur primordial pour l'interprétation des dosages de GBS, après hypophysectomie. Pour toutes les femelles observées, les points de dosages se placent entre le 2^{me} et le 19^{me} jour après l'ouverture vaginale. Pour les 2^{me}, 14^{me}, 15^{me} et 19^{me} jours, les points représentent la moyenne des chiffres correspondants. Seuls deux points ne peuvent trouver place sur la courbe (femelles 402 et 403); peut-être dans ces deux cas, la montée des GBS aurait-elle été retardée comme dans les cas décrits au paragraphe précédent. La fig. 4 groupe le graphique obtenu de cette façon, en regard de la courbe d'un cycle normal d'une femelle pesant le même poids

et ayant eu le même nombre de cycles que les femelles hypophysectomisées. Dans ce cas comme dans le cas précédent, la courbe construite après hypophysectomie est exactement de même allure qu'au cours du cycle normal, mais beaucoup plus basse, tant en

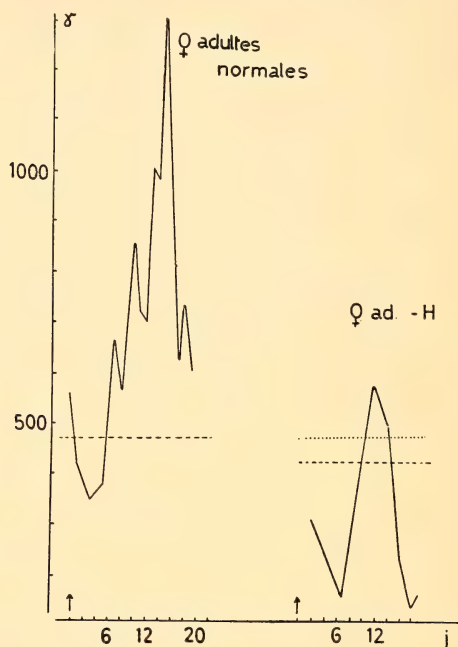


FIG. 4.

Elimination des GBS (trait plein) chez une femelle normale au cinquième cycle (à gauche) et chez 17 femelles hypophysectomisées après leur quatrième cycle (à droite). Le poids moyen de la femelle normale au cours du cycle envisagé est indiqué en trait pointillé. Pour les femelles hypophysectomisées, le trait pointillé interrompu représente la moyenne du poids des femelles la veille de l'opération; le trait pointillé ordinaire, le poids moyen des femelles au moment des dosages.

valeurs absolues que par rapport au poids de l'animal. Cependant, ici, nous n'avons pas observé de corps jaunes en fin d'expérience, ceux-ci ayant disparu par suite de l'action de l'hormone LH injectée après coup (GREEP et JONES, 1950).

TROPHOBLASTOMES OVARIENS

Un nouveau cas de trophoblastomes chez une femelle hypophysectomisée non traitée, avec cependant un reliquat hypophy-

saire, a été étudié au point de vue des GBS. Dans ce cas (n° 390), l'élimination observée pendant 30 jours après l'opération a présenté des fluctuations assez amples, dans l'ensemble ascendantes. Mais le rapport R est cependant toujours resté inférieur à l'unité. Dans le cas de la femelle qui avait été observée auparavant, les dosages du premier mois avaient présenté une courbe semblable, mais les GBS remontaient de plus en plus au cours des trois mois suivants, pour dépasser largement le poids à la fin du quatrième mois (cf. K. PONSE et coll., 1954, fig. 48).

CONCLUSIONS

L'élimination des GBS après hypophysectomie dépend, pendant les jours qui suivent immédiatement l'opération, de la date du cycle précédent; elle reproduit l'allure d'un cycle normal, avec cependant des chiffres fort abaissés. Par la suite, l'élimination reste en palier fluctuant, ou peut descendre encore au-dessous de 100 gammas par jour chez des femelles impubères ou n'ayant eu qu'un cycle avant l'opération; elle oscille entre 130 et 225 gammas chez des femelles plus âgées (élimination au cours du cycle normal: 400 à 1200 gammas environ, suivant la période du cycle).

Le rapport R peut descendre au-dessous de 0,30, alors qu'il est, dans le cycle normal, de 0,60 au minimum et de 2,75 au maximum.

AUTEURS CITÉS

- GREEP, R. O. and I. C. JONES. 1950. *Steroid control of pituitary function*. Rec. Progr. in Hormone Res. 5: 195-261.
- JAYLE, M. F., O. CREPY et F. MESLIN. 1949. *Nouvelle méthode d'exploration de la fonction lutéale au cours du cycle menstruel*. Ann. Endocrinol. 10: 122-130.
- PONSE, K., D. WEIHS, O. LIBERT et R. DOVAZ. 1954. *Trophoblastomes ovariens et leur activité endocrine chez le Cobaye*. Acta Endocrinologica. 17: 355-365.
- O. LIBERT et R. DOVAZ. 1955. *Exploration du corps jaune et du placenta du Cobaye par la détermination d'une fraction de glycuco-conjugués urinaires*. Ann. Endocrinol. 16: 122-130.
-

N° 16. **E.-J. Charollais**, Genève. — Les métabolites des androgènes (17-cétostéroïdes) au cours du cycle normal et après hypophysectomie du Cobaye femelle.

(Station de Zoologie expérimentale de l'Université de Genève.)

INTRODUCTION.

Il est maintenant certain que les gonadotropines, seules, hautement purifiées, sont capables, à doses convenables, de provoquer la virilisation des Cobayes femelles entières, hypophysectomisées ou surrénalectomisées. L'ovaire est indispensable à cette masculinisation. Il ressort donc indiscutablement que s'il y a virilisation, il doit y avoir des androgènes dont les métabolites doivent pouvoir être décelés. C'est dans le cadre de ces recherches, que nous nous sommes efforcés d'étudier les 17-cétostéroïdes neutres (17 CS) urinaires du Cobaye. Chez l'homme, ce sont les métabolites essentiels des hormones mâles. Ils sont déterminés par la réaction colorimétrique classique de Zimmermann (méta-dinitrobenzène en milieu alcalin). Qu'en est-il chez le Cobaye? Nous nous bornerons à étudier ici le cas de la femelle normale et hypophysectomisée.

MÉTHODES.

La méthode de dosage des 17 CS que nous avons adoptée a été décrite en détail [1, 2]. Nous rappellerons simplement que le problème du dosage des 17 CS dans les urines du Cobaye a été résolu par la mise en œuvre de 3 moyens différents:

1. Adoption d'une micro-méthode de dosage.
2. Extraction par fractionnement selon la méthode de JAYLE, BAULIEU [3, 4].
3. Utilisation des systèmes enzymatiques d'*Helix pomatia* pour l'hydrolyse des conjugués urinaires.

L'identification des 17 CS se fait par chromatographie sur papier selon la méthode de SAVARD [5]. De plus, il est important de bien

comprendre que les fractions A, B et C extraites de l'urine humaine ne sont pas comparables aux mêmes fractions de l'urine de Cobaye, la composition de ces deux milieux étant totalement différente.

Chez l'homme, la fraction A contient l'androstérone, l'étiocolanolone et environ 20% de la totalité des 17 CS oxygénés en 11. La fraction B ne renferme pratiquement que de la déhydroisoandrostérone. La fraction C contient le 80% de la totalité des 17 CS oxygénés en 11.

Chez le Cobaye, la composition de ces trois fractions est encore mal connue. Pour l'instant, seule la fraction A est vraiment intéressante, elle renferme essentiellement des 17 CS oxygénés en 11, à savoir dans l'ordre où on peut les observer sur les chromatogrammes:

- 11 oxy-étiocolanolone
- 11 oxy-androstérone
- 11 céto-étiocolanolone
- 11 céto-androstérone

De faibles taches Zimmermann positives sont également toujours présentes, leur nature exacte n'est pas encore connue.

RÉSULTATS.

a) Femelles normales, cycle oestral.

Une dizaine de femelles ont été étudiées durant le cycle, au cours duquel nous avons noté des variations fondamentales. Voici ce qui ressort de cette étude:

1. Au cours du cycle oestral du Cobaye, on assiste à une très forte montée de la fraction A (fig. 1). Les résultats préliminaires fournis par la chromatographie sur papier, nous montrent qu'il s'agit essentiellement des 17 CS oxygénés en 11 cités plus haut. La composition de la fraction A ne semble pas varier au cours du cycle. Dans 2 cas étudiés par chromatographie sur papier, il n'y a pas d'androstérone. L'étude chromatographique ne fait que commencer.

2. Le maximum d'élimination de la fraction A est réalisé dans l'intervalle compris entre 24 et 48 heures après le début de l'ouverture vaginale, ce qui correspond dans tous les cas où nous avons pu le vérifier au moyen de frottis vaginaux, au moment du plein

rut (apparition de cellules épithéliales kératinisées éosinophiles et disparition des leucocytes). Si la montée des 17 CS (fraction A) s'effectue brusquement en l'espace de 24 heures, la chute est tout aussi rapide et nous conduit, 24 heures après le maximum, à un taux inférieur au taux moyen de repos (dioestre). Ainsi en 4 à 5 jours, le taux des 17 CS redevient normal. Du point de vue androgène, l'oestre est terminé (fig. 1).

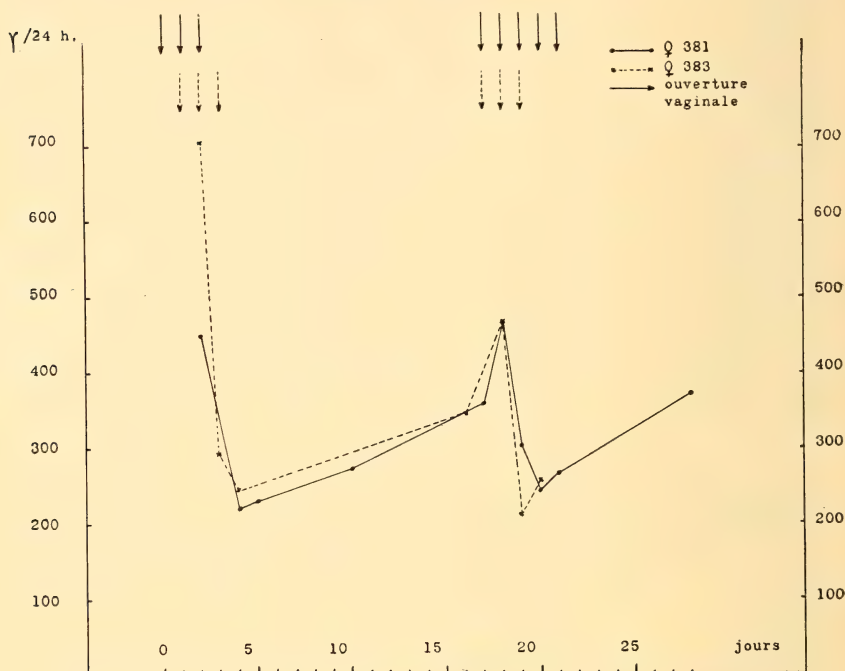


FIG. 1.

Élimination comparée des 17 CS chez deux femelles normales au cours du cycle œstral. Noter la montée caractéristique de l'oestre.

3. Si les métabolites dosés dans la fraction A des 17 CS sont une bonne représentation de l'activité androgène de l'animal, nous sommes à même de penser qu'il s'agit d'une décharge androgène au moment de l'oestre. Nous avons exposé les raisons qui appuient l'hypothèse de l'origine principalement surrénalienne de ces androgènes [2]. L'étude d'animaux surrénalectomisés permettra de préciser ces notions.

b) Femelles hypophysectomisées.

15 femelles hypophysectomisées ont été étudiées après l'opération afin d'observer les variations du taux des métabolites urinaires des androgènes. Vu les difficultés de l'opération et les traitements ultérieurs subis par ces animaux, nous n'observerons ici que deux groupes de cas bien définis : d'une part les effets de l'hypophysectomie simple de longue durée (4 semaines; fig. 2), d'autre part l'effet immédiat sur l'élimination des 17 CS (4 à 10 jours; fig. 3).

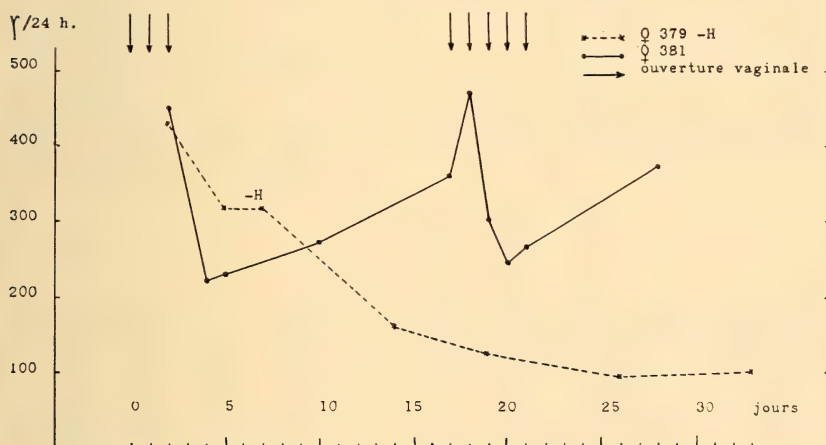


FIG. 2.

Comparaison entre l'élimination des 17 CS d'une femelle normale au cours du cycle œstral et celle d'une femelle hypophysectomisée.

Voici les conclusions que nous pouvons tirer :

1. Comparée à une femelle normale, une femelle hypophysectomisée présente des différences fondamentales, à savoir :

- disparition de la montée caractéristique de l'oestre au moment où celui-ci devrait se produire (fig. 2).
- baisse d'abord rapide des 17 CS urinaires (fraction A) dans les 4 à 10 jours qui suivent l'opération (fig. 3), puis plus lente. Au bout de 3 à 4 semaines, on atteint un plateau. Le taux est alors faible mais il y a toujours une élimination résiduelle non nulle (environ 100 gammas par 24 heures.)

c) l'allure de la courbe d'hypophysectomie semble bien refléter la régression fonctionnelle de l'ovaire et du cortex surrénalien, d'abord brusque (ovaire), ensuite très lente et très longue (surrénale). Puisque chez le Cobaye hypophysectomisé la surrénale régresse avec une extrême lenteur, il n'est pas étonnant d'observer une chute lente et de ne pas atteindre une élimination nulle.

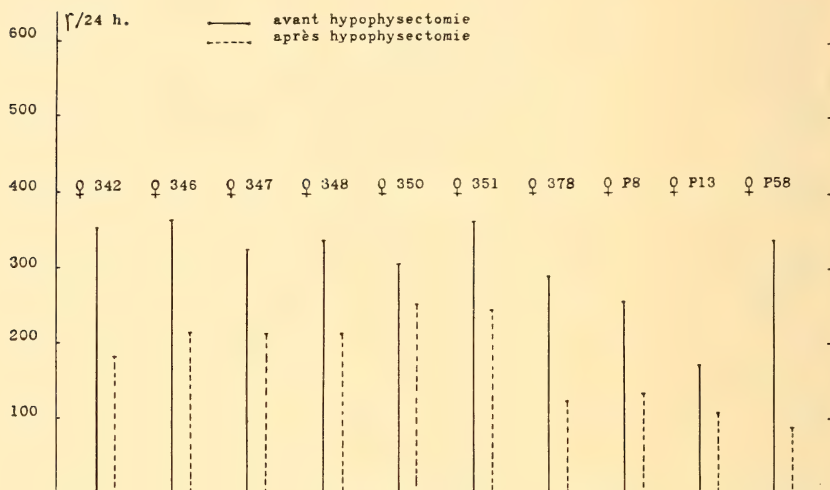


FIG. 3.

Elimination des 17 CS chez 10 femelles avant hypophysectomie et 4 à 10 jours après l'opération.

2. L'étude par chromatographie sur papier selon Savard [5] ne révèle encore chez l'hypophysectomisé aucune variation dans la composition de la fraction A des 17 CS. Nous observons les mêmes stéroïdes oxygénés en 11 mais en quantités plus faibles. Cependant nous n'avons pas encore assez de cas pour pouvoir nous prononcer définitivement; les extraits que nous avons chromatographiés n'étant pas suffisamment purifiés, des pigments urinaires gênaient quelque peu nos observations.

3. La présence de reliquats hypophysaires de petite taille ne semble pas affecter l'élimination des 17 CS de façon notable si l'animal n'est pas traité par les gonadotropines. Le taux de 17 CS

ne permet donc pas de diagnostiquer la présence ou l'absence de reliquats. Mais si l'animal est traité par les gonadotropines (au moins 40 UI de *Physex* par jour pendant 3 semaines) on note en général une montée des 17 CS en fin de traitement lorsqu'il y a un reliquat ou un régénérat d'hypophyse. Dans le cas contraire, on assiste à une chute plus ou moins brusque ou à une élimination en plateau.

CONCLUSION.

A l'aide d'une technique, empirique au départ, nous avons pu mettre en évidence, d'une part une élimination cyclique des 17 CS urinaires (fraction A) chez le Cobaye femelle normal, d'autre part une chute nette et caractéristique suivant l'hypophysectomie chez ces mêmes animaux. Les expériences de surrénalectomie, actuellement en cours, nous permettront de préciser les rôles respectifs de l'ovaire et de la surrénale.

AUTEURS CITÉS

1. CHAROLLAIS, E. J. 1955. *Contribution à l'étude de la réaction de Zimmermann en vue du microdosage des 17 cétostéroïdes neutres dans l'urine*. Bull. Soc. Chim. Biol. 37: 299-305.
 2. — K. PONSE et M. F. JAYLE. 1957. *Méthode de dosage des 17 céto-stéroïdes dans l'urine de Cobaye. Application au cycle œstral*. Ann. Endocrinol. 18: 109-119.
 3. JAYLE, M. F. et E. E. BAULIEU. 1952. *Fractionnement des 17 céto-stéroïdes neutres urinaires en trois catégories physiologiquement distinctes*. Bull. Soc. Chim. Biol. 34: 1200-1213.
 4. — E. E. BAULIEU et L. GONZALES-FLORES. 1952. *Les 17 cétostéroïdes conjugués urinaires. Nature et fractionnement*. Ann. Endocrinol. 34: 872-885.
 5. SAVARD, K. 1953. *Paper partition chromatography of C 19 and C 21 ketosteroids*. J. Biol. Chem. 202: 457-477.
-

N^o 17. **Ernst Sutter**, Basel. — Radar-Beobachtungen über den Verlauf des nächtlichen Vogelzuges ¹. (Mit 4 Abbildungen.)

(Naturhistorisches Museum Basel.)

Im Herbst 1956 wurden vom 7. bis 22. Oktober an den Radargeräten des Flughafens Zürich-Kloten Beobachtungen ausgeführt, die abklären sollten, ob das Radarbild für die Vogelzugforschung, namentlich für die quantitative Erfassung des Zuges, verwendbar ist. Im Sinne einer vorläufigen Mitteilung seien hier unsere Erfahrungen über die von der neuen Methoden gebotenen Möglichkeiten sowie einige erste Ergebnisse, soweit sie den nächtlichen Vogelzug betreffen, bekanntgegeben. Ein Bericht über den allgemeinen Verlauf des Unternehmens mit ausführlicheren technischen und methodischen Angaben wird an anderer Stelle (SUTTER, 1957) erscheinen.

Es wurde hauptsächlich am Überwachungsradar (Cossor Airfield Control Radar) gearbeitet, wobei der Schirm auf die minimale Radialdistanz von 10 naut. Meilen (18,5 km) eingestellt war. Die während der Umdrehung des Radarstrahles auf dem dunklen Schirm aufleuchtenden Echomarken registrierten wir mit einer Robotkamera, indem durchschnittlich alle 5 Minuten eine Zeitaufnahme von 1—3 Min. Exposition ausgelöst wurde. Man erhält so in Form eines Striches oder einer Punktreihe den Flugweg, den jedes vom Radar erfasste Objekt in der entsprechenden Zeiteinheit zurückgelegt hat, und kann daraus Flugrichtung und -geschwindigkeit ermitteln. Die Zeitbilder wurden in der Regel kombiniert mit unmittelbar anschliessenden „Momentbildern“, auf die bei 12 Sek. Exposition zwei Umgänge des Strahles entfallen. Die Echos erscheinen dann als Punkte, die sich zur Bestimmung der Zugdichte besser auszählen lassen als die oft sich überdeckenden Marken der Zeitbilder. Die Untersuchungen liefen tags und nachts; kürzere oder länger Unterbrüche infolge anderweitiger Beanspruchung des Gerätes ergaben sich meist vormittags und am frühen Nachmittag.

¹ Ausgeführt mit Unterstützung des Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

An den Arbeiten beteiligten sich die Zürcher Kantonsschüler Urs BLEULER, Ralf BLOCH, Hansjörg GLATTFELDER, Hans GLÄTTLI, Thomas GRÖBER, Hans Rud. GUJER, Beat KEHRER, Peter NIPKOW, Hansruedi STUCKI und Peter ZINGG. Für die Erlaubnis, den Radar benutzen zu dürfen, sind wir der Leitung des Flugsicherungsdienstes der Radio Schweiz AG. zu grossem Dank verpflichtet.

Das Radarbild lässt uns den Vogelzug in einem Beobachtungsfeld von gut 30 km Durchmesser verfolgen, erlaubt aber keine direkten Schlüsse auf Art und Anzahl der Durchzügler. Es registriert Vogelschwärme als Einheit und vermittelt so bloss einen groben Überblick über die Zugbewegung als Ganzes. Diese hat allerdings Ausmasse, die einen Verzicht auf Einzelheiten tragbar erscheinen lassen, wenigstens für die Bearbeitung von Fragen allgemeiner Art. Zu beachten ist ferner, dass das von uns verwendete Gerät besser auf hoch als auf niedrig fliegende Vögel anspricht, was ergänzende Beobachtungen über den bodennahen Zug notwendig machen würde, um ein vollständiges Bild zu erhalten.

GESAMTBILD DES NACHTZUGES

In welchem Sinne die Verhältnisse bei Nacht von dem uns vertrauten Bild des Tagzuges abweichen, scheint sich aus den Radaraufnahmen recht deutlich erschliessen zu lassen (Abb. 1, 2). Bei Tage sind die Echos sehr prägnant, und zwar nicht nur, wenn starke Krähen- und Taubenflüge unterwegs sind, sondern auch, wie aus den vergleichsweise angestellten Feldbeobachtungen hervorgeht, bei Kleinvogelzug. Nachts dagegen erhält man wesentlich feinere, darunter oft kaum angedeutete Echopunkte, die im Zeitbild teils zu einem deutlichen Strich sich zusammenschliessen, teils nur eine lockere Reihe bilden oder auch vereinzelt bleiben. Zugleich ist ihre Anzahl im Durchschnitt beträchtlich höher, der Abstand zwischen den Punkten geringer als am Tag. Bei schlechter Abstimmung der Apparatur wird der Nachtzug nicht oder nur schattenhaft erfasst, während der Tagzug noch wenigstens schwache Echomarken liefert.

Aus diesen Umständen folgern wir, dass die vom Radar registrierten Vogelgruppen im einen Fall eine grössere, im andern eine geringere, nahe der Empfindlichkeitsschwelle liegende Dichte aufweisen. Gegenüber der tagsüber meist im geschlossenen Trupp

oder Schwarm erfolgenden Wanderbewegung müsste nachts für die hauptsächlich beteiligten Sperlingsvögel ein Flug in nur lockerem Verband angenommen werden, wobei eine mehr oder weniger ausgeprägte Gruppenbildung aber wohl doch beibehalten wird. Dafür sprechen die im Radarbild recht deutlich abgezeichneten Einzelflugbahnen. Zum gleichen Ergebnis kam SIIVONEN (1936) bei Erhebungen über die Frequenz der Zugrufe von Drosseln, während nach der Mondbeobachtungsmethode ermittelte Daten (LOWERY und NEWMAN, 1955) im Frühling überhaupt keine, im Herbst eine anscheinend nur mässige Tendenz zum Gruppenflug erkennen

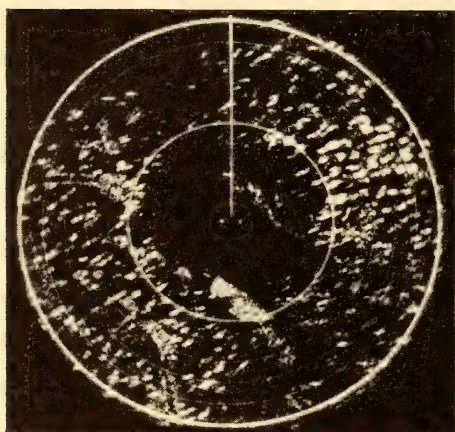


ABB. 1.

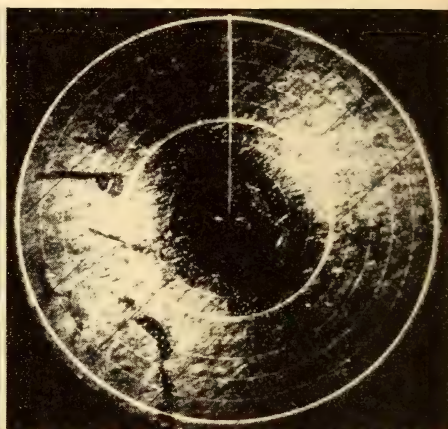


ABB. 2.

Aspekt des Vogelzuges im Radarbild am Tage und bei Nacht.

Abb. 1: 15. Oktober 1956, 10.11 h, Exposition 1 Minute, mittlere Zugdichte.

Abb. 2: 21. Oktober 1956, 23.24 h, Exposition 1 Minute, hohe Zugdichte.

Die senkrechte Linie weist nach Norden, die Kreise geben die Distanz in naut. Meilen (1,85 km) an, wobei der 5-Meilen- und der 10-Meilen-Kreis (aussen) stärker hervorgehoben sind. Auf allen Aufnahmen bleibt das Mittelfeld leer, da die Echos infolge Dämpfung ausfallen. Eine ebenfalls technisch bedingte Lücke tritt im NW- und SE-Sektor auf: Das Zentrum kreuzende Flugbahnen werden am besten, tangential gelegene dagegen schlechter oder gar nicht erfasst. Dieser Effekt kann eine Zentrierung der Flugrichtungen auf den Mittelpunkt resp. Radarsender vortäuschen. Für die festen Echos vergleiche Abb. 4 F.

lassen. Immerhin stimmen die verschiedenen Auffassungen darin überein, dass nachts eng gescharte Flüge selten sind und die Vögel dafür im gesamten sich gleichmässiger im Luftraum verteilen (von den teils abweichenden Verhältnissen bei Non-Passerres sehen wir hier ab).

ZEITLICHER ABLAUF DES ZUGES

Quantitative Daten über den nächtlichen Zug sind bisher durch Zählen der Flugrufe oder der vor dem Mond durchfliegenden Vögel gewonnen worden. Namentlich die Mondbeobachtung, von LOWERY (1951; ferner LOWERY und NEWMAN, 1955) auf breiter Basis zu einer sehr leistungsfähigen Methode ausgebaut, brachte einen entscheidenden Fortschritt. Die ersten Erfahrungen am Radar lassen erwarten, dass er die andern Untersuchungen in mancher Hinsicht zu ergänzen vermag und auch günstige Voraussetzungen für das vergleichende Studium der Zugbewegung im Tages- und Nachtrhythmus bietet.

Ausgewertet wurden die eingangs erwähnten Momentbilder, indem in der Gegend des 5-Meilen-Kreises Felder ausgezählt wurden, die einer Fläche von 2 : 2 Meilen entsprechen. Am günstigsten erwies sich eine quer zur Hauptzugrichtung gelegte Maske im Verhältnis 1:4 Meilen. Pro Bild führten wir im NE- und im SW-Sektor mindestens je eine Zählung aus und mittelten das Ergebnis. Unter der Annahme, dass die Vögel in 5 Min. durchschnittlich 2 naut. Meilen zurücklegen, erhält man so die Anzahl Echopunkte, die innert 5 Min. eine Front von 2 Meilen (3,7 km) Länge queren. Zur Ermittlung der Zugfrequenz innert 30 Min. standen jeweils 2 bis 6, im Durchschnitt 4 Aufnahmen zur Verfügung. Die Zahl der Punkte pro Zählfeld lag bei mässigem Zug um 20 bis 30 und erreichte bei grösster Dichte 240; den hier wiedergegebenen Diagramm liegen über 70 000 Einzelwerte zugrunde.

Da die Echos ungleich markiert und zuweilen nicht deutlich voneinander abgesetzt sind, zudem die Empfindlichkeit des Gerätes gewissen Schwankungen unterliegt, können die Zählungen nur Näherungswerte liefern. Besonders bei dichter Scharung der Punkte, verbunden mit Überdeckungen, ergeben sich Unsicherheiten, und hohe Zugdichten dürften gegenüber niederen allgemein etwas unterbewertet werden.

Die Frequenzdiagramme in Abb. 3 weisen auf eine bemerkenswerte Variabilität von Nacht zu Nacht, lassen aber auch einige gemeinsame Züge erkennen: In mehr oder weniger steilem Anstieg wird das Maximum gewöhnlich vor Mitternacht erreicht, worauf die Frequenz abzufallen beginnt und nach 4 Uhr morgens meist nur noch geringe Werte aufweist. Mit einer Ausnahme ist der

nächtliche Zugstrom vom frühmorgens einsetzenden Tagzug, der sich schon vor 6 Uhr als noch ungeordnete Bewegung ankündigen kann, deutlich abgesetzt. Verglichen mit dem Zugverlauf am Tage dauert die Hauptwanderzeit länger an, ohne sich jedoch auf die ganze Nacht zu erstrecken.

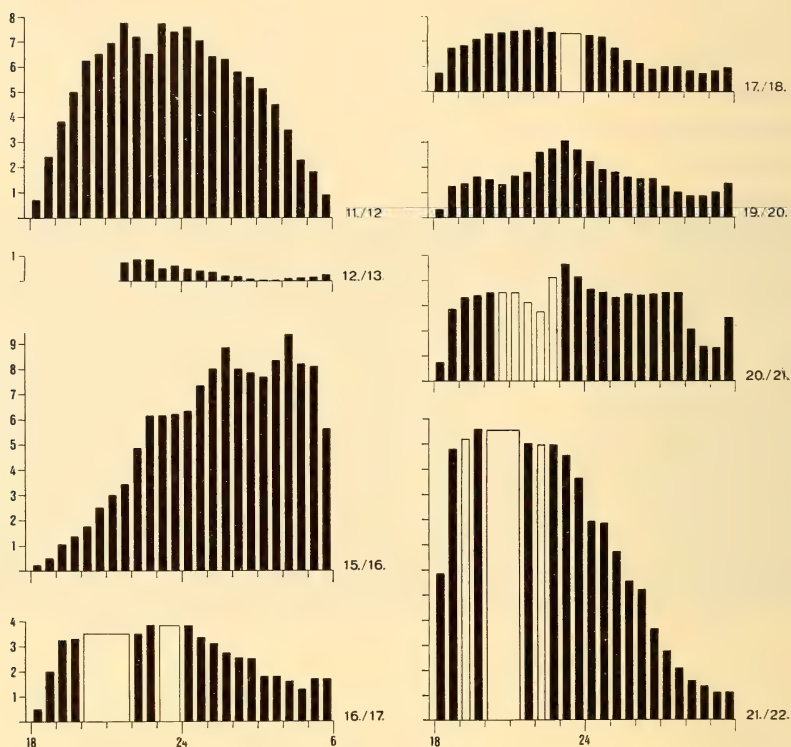


ABB. 3.

Nächtliche Zugfrequenz vom 11. bis 22. Oktober 1956. Ordinateneneinheit: Anzahl Echos in Hunderten auf eine Zugfrontbreite von 2 naut. Meilen (3,7 km) für je $\frac{1}{2}$ Stunde. Abszisse: Zeit in Stunden von 18 bis 06 Uhr. Wo die Unterlagen eine genaue quantitative Auswertung nicht zuließen, ist durch weisse Säulen die geschätzte Zugfrequenz als Minimalwert angegeben. Am 12./13. begann die Beobachtung erst 21.30 h, am 18./19. war fast keine Bewegung festzustellen und die Nächte vom 13./14. und 14./15. fielen infolge technischer Störung aus.

Wir kommen somit zu ganz entsprechenden Feststellungen wie LOWERY (1951). Mit dessen Mittelkurve, die sich allerdings auf den Frühjahrszug bezieht, stimmt besonders schön unser Diagramm

vom 11./12. Oktober überein. Mit Blick auf die Wetterlage haben wir den Eindruck, dass dieses tatsächlich dem Normalbild am nächsten kommen dürfte und abweichende Verhältnisse wie am 15./16. und 21./22. aus den besonderen meteorologischen Umständen gedeutet werden können. Auf eine derartige Analyse muss hier verzichtet werden. Es sei lediglich erwähnt, dass am 18./19., nach Regenfall während des ganzen Tages bis 20 Uhr, der Nachtzug praktisch ausfiel, während am 20./21., als von 22 Uhr bis in den frühen Morgen Regenfelder von grosser und geringerer Ausdehnung das Gebiet durchzogen, eine erhebliche Zugdichte erreicht wurde. Gerade in solchen Situationen leistet der Radar vorzügliche Dienste.

Ob die vom Radarbild abgeleiteten Frequenzdiagramme die wirklichen Verhältnisse zutreffend wiedergeben, darf aber noch nicht als erwiesen gelten. Wir schliessen dies vorläufig aus der generellen Übereinstimmung mit Befunden, die nach der Mondbeobachtungsmethode, nach den Zugrufen (SIIVONEN, 1936; VLEUGEL, 1954) sowie durch Registrierung der nächtlichen Zugunruhe gekäfigter Vögel (MERKEL, 1956; PALMGREN, 1944; WAGNER, 1937) erhoben wurden. Es sind deshalb parallel durchgeführte Beobachtungen nach verschiedenen Methoden geplant, um deren Vergleichbarkeit prüfen und die jeder einzelnen gesetzten Grenzen umreissen zu können. Daneben wären unter Mitarbeit von Radarfachleuten auch die Voraussetzung näher abzuklären, unter denen Vögel verschiedener Grösse einzeln oder im Verband ein Echo entstehen lassen (vgl. BONHAM und BLAKE, 1956).

ZUGRICHTUNG

Aus den Zeitaufnahmen, die Flugstrecken ein- oder mehrminütiger Dauer wiedergeben, können recht schön die eingehaltenen Flugrichtungen abgelesen werden. Die Bilder eignen sich speziell für einen raschen Überblick, während eine feinere quantitative Auswertung mühsam und zeitraubend ist; um z. B. in der Gegenrichtung, nach NE ziehende Flüge zu erkennen, bedarf es des exakten Vergleichs unmittelbar aneinander anschliessender Aufnahmen.

Anhand eines Beispielen seien einige Probleme angedeutet, deren Bearbeitung am Radarmaterial sich aufdrängt (Abb. 4). Beim

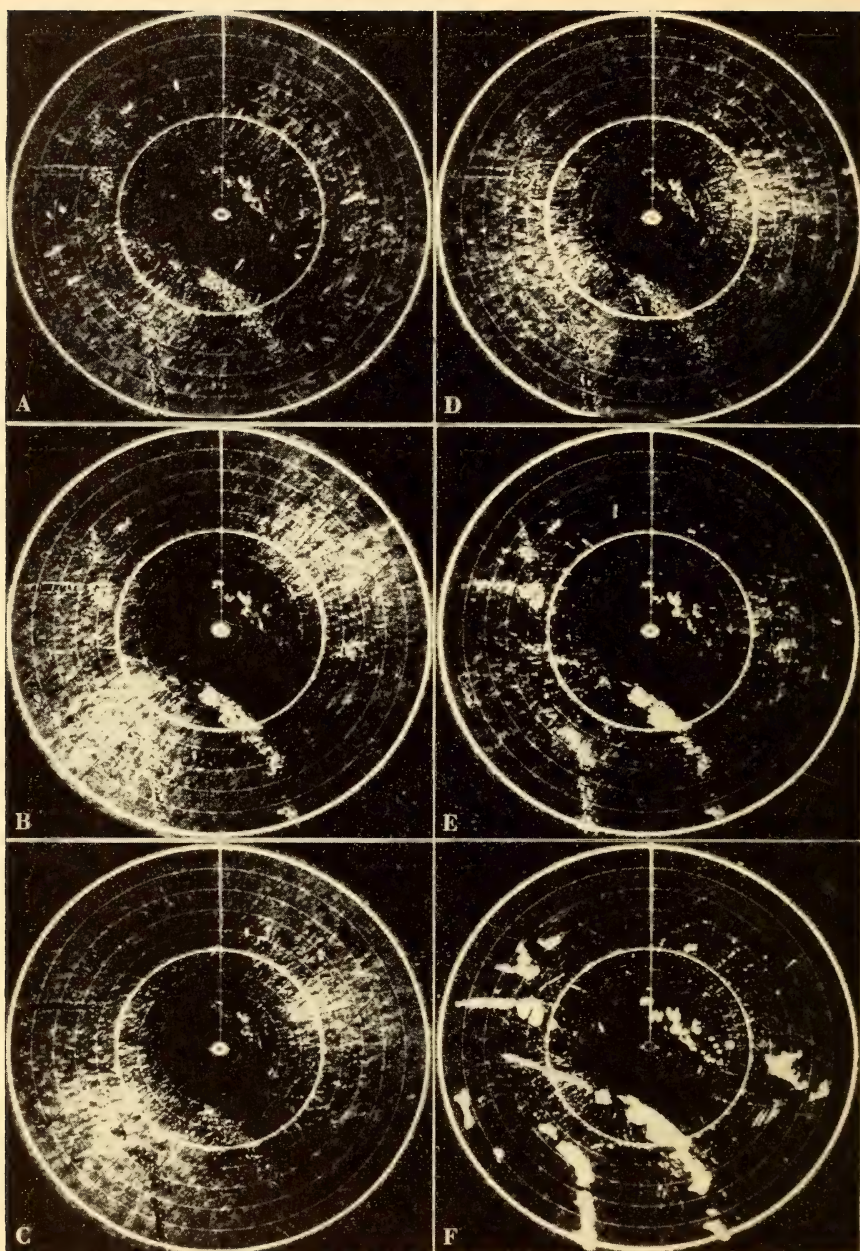


ABB. 4.

Drehung der mittleren Zugrichtung im Laufe der Nacht; 11./12. Oktober 1956, A 19.15 h, B 21.30 h, C 0.25 h, D 2.35 h, E 3.59 h, F 5.24 h; A—E Exposition 1 Minute, F 2 Minuten. Die festen, von Bergen und Hügeln herrührenden Echos, die bei der Beurteilung der Bilder zu berücksichtigen sind, treten besonders klar bei F hervor; nach Möglichkeit werden sie mittels der MTI-Vorrichtung eliminiert.

Betrachten der Serie vom 11./12. Oktober fällt vor allem die im Laufe der Nacht auftretende Drehung der Hauptrichtung von NE-SW nach E-W auf. Entsprechend den Vorstellungen von VLEUGEL (1954) könnte man an einen Einfluss des Windes denken. Der Wetteranalyse von Herrn A. URFER vom Flugwetterdienst Kloten, der die Bearbeitung der meteorologischen Daten übernommen hat, entnehmen wir folgende Stichworte: Hochdruckwetterlage in Mittel- und Westeuropa, ab 21 h Bildung einer ausgedehnten Nebelschicht vom Boden bis 750—900 m ü. M. Bis zur Nebelobergrenze nachts windstill oder variable Winde von 2—6 km/h. Über dem Nebel bis 1500 m ü. M. von 19 h bis 01 h langsame, progressive Winddrehung von SE über S nach WSW (140° — 250°), Windgeschwindigkeit 6—12 km/h; nach 01 h SW-Strömung (220° — 250°) von 10—15 km/h.

Unter der Annahme, die Vögel seien über dem Nebel gezogen (was bei entsprechender Lage am Tage die Regel ist, vgl. SUTTER, 1957), hätte sich somit die Richtung des Zuges im gleichen Sinne, aber um einen geringeren Winkelbetrag verschoben wie diejenige der Luftströmung. Schätzungen der mittleren Zugrichtung, die hier wie beim Wind nach der Herkunft bezeichnet sei, ergaben um 19 h etwa 50° , bis 01 h eine Drehung auf 70° und bis 05 h auf 80° — 85° . Gegenüber dem zeitlichen Ablauf und Betrag der Winddrehung bleibt also doch nur eine entfernte, vielleicht zufällige Beziehung. Eine Schwenkung der Zugachse nach rechts, von Süden nach Westen, trat in fast jeder Nacht auf, so dass möglicherweise eine ähnliche Erscheinung vorliegt, wie sie TINGBERGEN (1956) für Buchfinken angibt, die im Laufe des Vormittags zur Linksdrehung neigen. Bevor das ganze Material gründlich geprüft und in weiteren Zugperioden vermehrt worden ist, sind aber Deutungsversuche noch verfrüht.

Nur kurz vermerkt sei die Beobachtung, dass ausser einer oft starken Streuung sich häufig zwei Hauptrichtungen abzeichnen, eine mehr südliche und eine vorwiegend südwestliche (vgl. Abb. 4 B, C, D). Diese beiden Zugströme scheinen auch in ihrem zeitlichen Ablauf eine gewisse Selbständigkeit zu wahren. Ob an ihnen verschiedene Arten oder Vögel verschiedener Herkunft beteiligt sind, oder ob es sich um Bewegungen in verschiedener Höhe handelt, wissen wir noch nicht.

Bestimmungen der Flughöhe konnten 1956 nur vereinzelt ausgeführt werden. 5 Stichproben um Mitternacht ergaben Werte zwischen 150 und 450 m unter Bevorzugung der Höhenlage von etwa 200—300 m über dem Boden. In der Nacht vom 19./20. Oktober erreichten viele kaum 50 m und die Mehrzahl blieb unter 200 m. Diese Erhebungen geben jedoch ein einseitiges Bild, da das verwendete Gerät zur Zeit unserer Untersuchungen offenbar nicht empfindlich genug war, um wesentlich höher fliegende, lockere Vogelgruppen zu registrieren. Wir hoffen später zur wichtigen Frage der Flughöhe zuverlässigere Unterlagen sammeln zu können.

Nachdem das Studium des nächtlichen Vogelzuges in jüngster Zeit durch Arbeiten verschiedenster Richtungen mächtig in Fluss gekommen ist und auch in den Fragen der Navigation und Orientierung entscheidende Fortschritte erzielt worden sind (SAUER, 1957), wird die Erweiterung der Forschungsmethoden durch neue Hilfsmittel von besonderem Nutzen sein. Die Hinweise auf die Auswertungsmöglichkeiten des Radarbildes möchten auf ein solches aufmerksam machen und ganz besonders zu ähnlichen Untersuchungen anregen, denn bei einem so weiträumigen Geschehen, wie es der Vogelzug darstellt, lässt sich jede Arbeitsmethode erst im Zusammenwirken mehrerer Beobachtungsstationen voll ausschöpfen.

LITERATUR

- BONHAM, L. L. and L. V. BLAKE. 1956. *Radar echoes from birds and insects*. Scientific Monthly 82: 204-209.
- LOWERY, G. H. 1951. *A quantitative study of the nocturnal migration of birds*. Univ. Kansas Publ. Nat. Hist. 3: 361-472.
- and R. J. NEWMAN. 1955. *Direct studies of nocturnal bird migration*. In: Recent Studies Avian Biology, Urbana, pp. 238-263.
- MERKEL, F. W. 1956. *Untersuchungen über tages- und jahresperiodische Aktivitätsänderungen bei gekäfigten Zugvögeln*. Z. Tierpsychol. 13: 278-301.
- PALMGREN, P. 1944. *Studien über die Tagesrhythmik gekäfigter Zugvögel*. Z. Tierpsychol. 6: 44-86.
- SAUER, F. 1957. *Astronavigatorische Orientierung einer unter künstlichem Sternenhimmel verfrachteten Klappergrasmücke, Sylvia c. curruca (L.)*. Naturwiss. 44: 71.

- SIIVONEN, L. 1936. *Die Stärkevariation des nächtlichen Zuges bei Turdus ph. philomelos Brehm und T. musicus L., auf Grund der Zuglaute geschätzt und mit der Zugunruhe einer gekäfigten Singdrossel verglichen.* Ornis Fennica 13: 59-63.
- SUTTER, E. 1957. *Radar als Hilfsmittel der Vogelzugforschung.* Orn. Beob. 54: 70-96.
- TINBERGEN, L. 1956. *Field observations of migration and their significance for the problem of navigation.* Ardea 44: 231-235.
- VLEUGEL, D. A. 1954. *Waarnemingen over de nachttrek van lijsters (Turdus) en hun waarschijnlijke oriëntering.* Limosa 27: 1-19.
- WAGNER, H. O. 1937. *Der Einfluss von Aussenfaktoren auf den Tagesrhythmus während der Zugphase.* Vogelzug 8: 47-54.
-

N^o 18. **H. Ursprung**, Zürich. — Untersuchungen zum Anlagemuster der weiblichen Genitalscheibe von *Drosophila melanogaster* durch UV-Strahlenstich.

(Aus dem Zoologisch-vergl. anatomischen Institut der Universität Zürich.)

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG.

Bei *Drosophila melanogaster* entstehen innere und äussere Geschlechtsorgane —mit Ausnahme der Gonaden— sowie die den After umgebenden Analplatten aus der Genitalscheibe (DOBZHANSKY, 1930). Durch Transplantation von Scheibenfragmenten aus verpuppungsreifen Larven in die Körperhöhle gleichalteriger Tiere konnten HADORN und GLOOR (1946) auf der weiblichen Genitalscheibe ein Mosaik von Anlagebezirken für die einzelnen Strukturelemente des Geschlechtsapparates nachweisen. HADORN, BERTANI und GALLERA (1949) bestätigten diese Befunde an der männlichen Scheibe und fanden weiter, dass die Anlagebezirke regulationsfähige embryonale Felder darstellen. Schliesslich wurde an der weiblichen Scheibe die Feldnatur der Spermathekenanlage nachgewiesen (HADORN und CHEN, 1956).

Bei allen diesen Experimenten bestand die Hauptschwierigkeit in der exakten Schnittführung für die Fragmentation der Scheiben. Es stellte sich daher *erstens* die Frage, ob die präzisere Defektsetzung durch UV-Strahlenstich für die Analyse des Anlage-musters geeignet sei. *Zweitens* war zu prüfen, ob mit der neuen Technik die Anlagebezirke feiner abgegrenzt werden können, und *drittens*, ob in den gefundenen Feldern Regulations-verhalten feststellbar sei.

2. METHODIK.

Der verwendete Strahlenstichapparat wurde unter Leitung von Herrn Prof. Dr. A. v. MURALT und Herrn Ing. E. DE GRUYTER am Physiologischen Institut der Universität Bern gebaut¹. In den vorliegenden Untersuchungen wurde mit kurzwelligem UV von $265\text{ m}\mu \pm$ gearbeitet. Die Genitalscheiben wurden aus verpuppungsreifen Larven unseres Wildstammes „Sevelen“ freipräpariert und in HOLTFRETER-Lösung auf einem Quarzobjektträger bestrahlt. Bis zur Implantation in die Körperhöhle von Larven, die 10–14 Stunden vor Pupariumbildung standen, blieben die Scheiben höchstens zwei Stunden in der Lösung. Nach der Metamorphose wurden die Implantate aus dem Abdomen der Wirtsfiegen herauspräpariert und zu Totalpräparaten verarbeitet.

3. ERGEBNISSE.

Abb. 1, A—H, und Tab. 1, A—H geben einige Versuchsanordnungen und Resultate.

Implantierte u n b e s t r a h l t e Genitalscheiben entwickeln sich zu völlig normalen Geschlechtsapparaten mit Ovidukt, Uterus, ventralem Receptaculum, je zwei Spermatheken und Parovarien und je einem Paar Vaginal- und Analplatten mit normalem Dornenbesatz (A, Kontrollversuche).

Aus b e s t r a h l t e n Scheiben entstehen je nach Versuchsanordnung charakteristisch geschädigte Genitaltrakte.

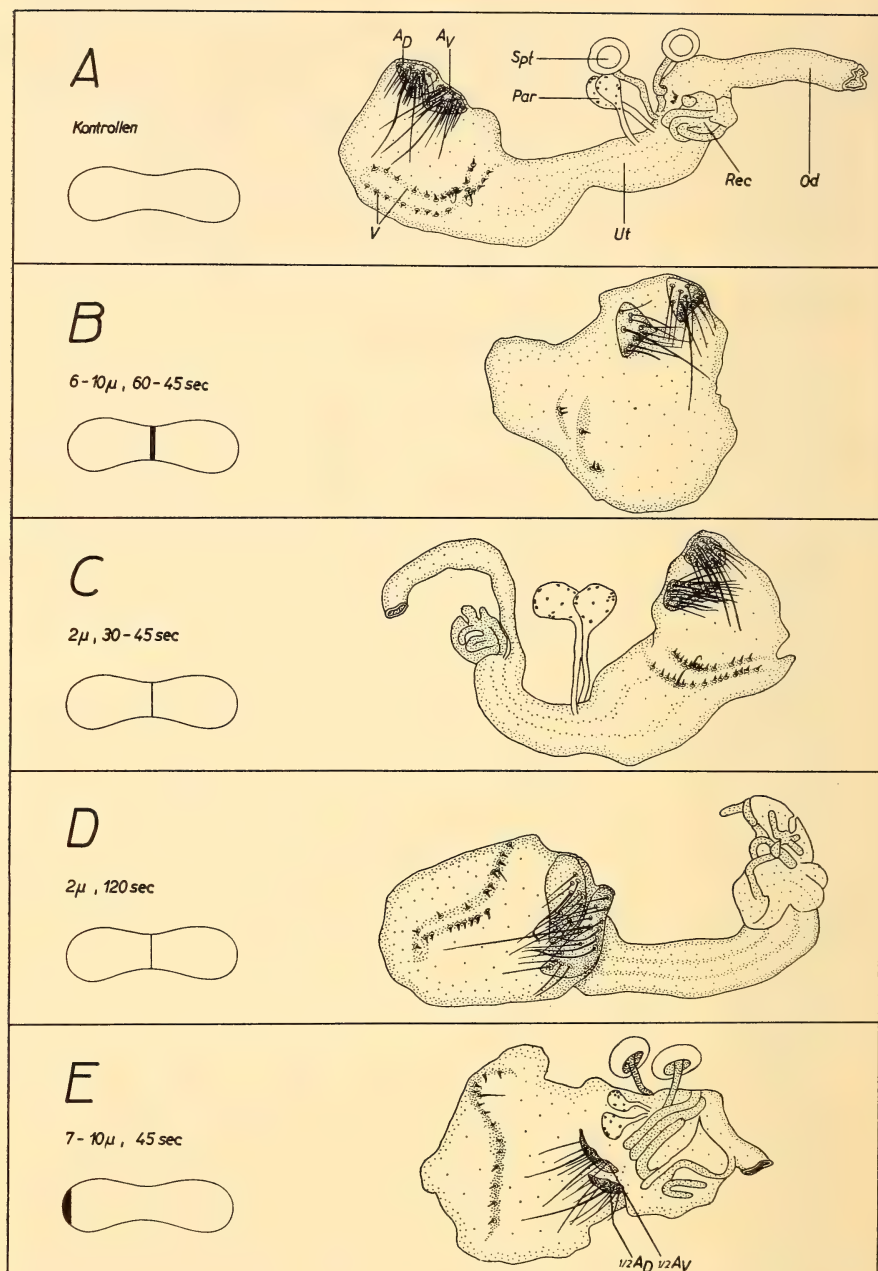
¹ Beiden Herren danke ich für ihre zahlreichen Ratschläge bestens. Ferner danke ich meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. HADORN, für die Einführung in die Probleme und die Transplantationstechnik herzlich.

Der Ovidukt fehlt immer dann, wenn die mediane Region der Scheibe in der ganzen Länge während 60—45 sec. mit einem Strahlenfeld von 6—10 μ Breite bestrahlt wurde (B). Bestrahlung der lateralen Scheibenregion hingegen beeinträchtigt die Ausbildung des Ovidukts nicht (E). Dasselbe gilt für UV-Einwirkung auf die hintere Mediangegend (H). Bestrahlung der vorderen Mittelregion lässt den Ovidukt ausfallen (G).—Wir schliessen daraus, dass der Anlagebezirk für den Ovidukt in der vorderen Hälfte der Scheibenmitte liegt (Abb. 2).

Für die Ausschaltung von Uterus und ventralem Receptaculum sind ähnliche Experimente geeignet wie für die Zerstörung der Oviduktanlage. Bei gleichen Versuchsbedingungen zeigen sich aber beide Strukturelemente bedeutend weniger „empfindlich“ als der Ovidukt (Tab. 1, B). Durch Vergrösserung von Bestrahlungsfeld und -dauer lassen sich die Ausfälle steigern. Bestrahlung nur der vorderen oder nur der hinteren Mittelhälfte der Scheibe genügte in keinem Falle zur Ausschaltung des Uterus (G, H).—Der Anlagebezirk für den Uterus muss sich somit über die ganze Länge der Scheibe erstrecken und nach beiden Seiten weiter reichen als das Oviduktfeld.

Als Anhangsgebilde des Uterus fehlen die Spermatheken immer dann, wenn der Uterus nicht entwickelt ist. Bei Schädigung des Zentralbereiches der Scheibe mit geringen Bestrahlungsfeldern und kleiner Dosis können die Spermatheken aber auch elektiv, ohne Beeinträchtigung anderer Strukturelemente, betroffen werden (C). Lateralbestrahlung hat bei gleicher Dauer und Feldgrösse nie, bei grösserem Bestrahlungsfeld (E) nur in wenigen Fällen Einfluss auf die Ausbildung der Samentaschen. Wenn zudem die Ergebnisse der Vorn-hinten-Experimente (G, H) herangezogen werden, so muss die Spermathekenanlage einen engen Bezirk in der vorderen Hälfte der Medianen einnehmen.

Als sehr auffällige braune Kapseln sind die Spermatheken besonders einfach zu untersuchen. Es schien deshalb lohnend, am Beispiel des Spermathekenfeldes die Genauigkeit der Strahlenstichtechnik zu prüfen. Die Scheiben wurden in der Medianen mit „punktförmigen“ Strahlenfeldern von 2 μ Seitenlänge belegt. Bestrahlung der ganzen Scheibenlänge in der Medianen führt schon bei 15 sec. Dauer fast immer zum Ausfall beider Spermatheken. Auf punktförmige Einwirkung hingegen spricht nur eine bestimmte



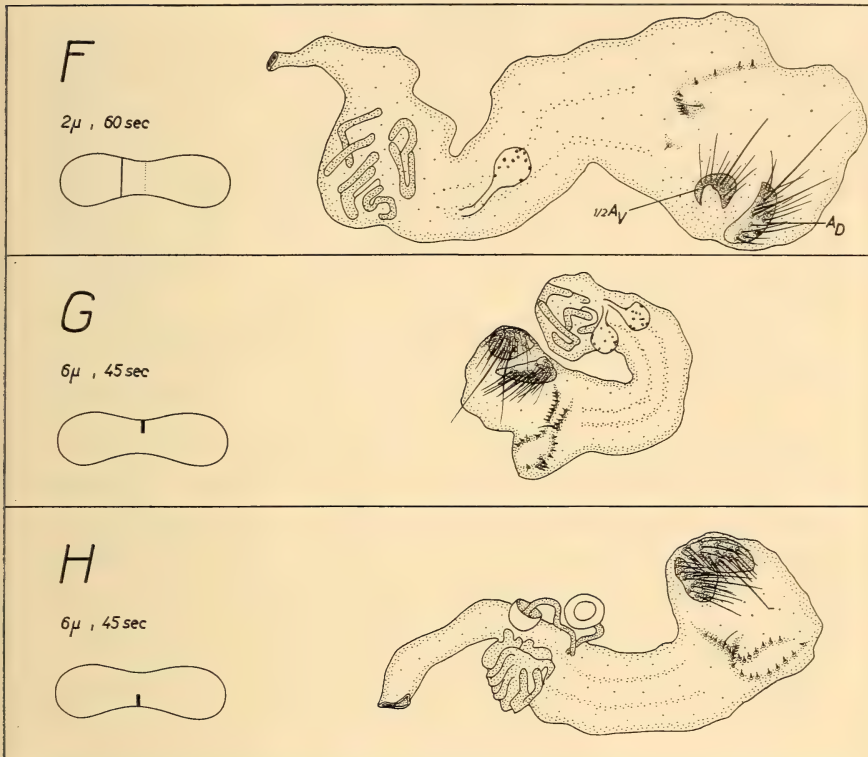


ABB. 1.

Entwicklungsleistung von Genitalscheiben in verschiedenen Versuchsanordnungen (A—H). Bestrahlte Region schwarz. Od = Ovidukt; Ut = Uterus; Rec = ventrales Receptaculum; Spt = Spermatheke; Par = Parovar; Ad = dorsale, Av = ventrale Analplatte; V = Vaginalplatte. Vergrößerung 100×.

Stelle an; sie liegt 3 Teilstriche vom Vorderrand der Scheibe entfernt, wenn die ganze Länge 8 Teilstriche beträgt. Die Vermutung liegt nahe, dass damit das Feldzentrum getroffen worden ist; eine Stütze für diese Annahme bilden die Resultate der Bestrahlungen je 1 Teilstrich vor und hinter diesem Zentrum, nach denen die Kapseln missbildet werden, nicht aber ausfallen. Der Experimentalbefund spricht für die Richtigkeit der von HADORN und CHEN (1956) gegebenen Hypothese, dass das Spermathekenfeld im Zeitpunkt vor der Verpuppung monozentrisch organisiert sei.

Die Parovarien werden nicht im gleichen Bezirk angelegt wie

TABELLE 1.

Entwicklungsleistung von n Genitalscheiben in verschiedenen Versuchsanordnungen.

Bezeichnungen wie in Abb. 1.

Versuch	n	Od	Ut	Rec	Spt			Par			Ab	Av	V
					0	1	2	0	1	2			
A; Kontrollen, unbestrahlt	32	32	32	32	0	0	32	0	0	32	32	32	64
B; median 6—10 μ , 60—45 sec.	33	3	10	6	29	4	0	29	4	0	Schaden schwach	Schaden stärker	Schaden stark
C; median 2 μ , 30—45 sec.	27	18	26	26	22	5	0	2	3	22	27	27	54
D; median 2 μ , 120 sec.	8	1	4	2	7	1	0	5	2	1	8	5	12
E; lateral 7—10 μ , 45 sec.	21	20	21	21	5	2	14	3	6	12	21 Halbplatten	20 Halbplatten	21
F; paramedian 2 μ , 60 sec.	16	10	16	16	1	0	0	1	13	2	16	16 Halbplatten	18
G; vorn median 6 μ , 45 sec.	16	3	16	15	9	6	1	2	3	11	16	16	30
H; hinten median 6 μ , 45 sec.	16	10	16	15	1	6	9	10	1	5	16	15	28

die Samentaschen. Das kann einmal daraus geschlossen werden, dass es in nahezu 100 Fällen gelungen ist, die Bildung der Spermatheken zu verhindern, ohne gleichzeitig die Parovarien zu schädigen. Ein Vergleich der Experimente C und D zeigt sodann, dass durch Erhöhung der Bestrahlungsdauer die Parovarien zerstört werden können. Auch das Vorn-hinten-Experiment spricht für verschiedene Zentren von Spermatheken und Parovarien (G, H). Paramedianbestrahlung führt zur Zerstörung einer Parovarianlage (F).—Wir schliessen daraus, dass die Parovarien im Behandlungsstadium paarig angelegt sind. Ihre Primordien liegen hinter der Scheibenmitte zu beiden Seiten der Medianen. Ob es sich um zwei einzentrische Felder oder um ein zweizentrisches handelt, kann einstweilen nicht entschieden werden.

Bei starker Medianbestrahlung werden auch die Vaginalplatten geschädigt; meist wird die in der Normalentwicklung und bei Kontrollen beobachtete Dornenzahl 14 nicht erreicht; oft fehlen die Platten überhaupt (B). Bei schwacher Medianbestrahlung hingegen sind die Vaginalplatten unbetroffen (C, D), selbst wenn z. B. der Ovidukt ausfällt. Paramedianbestrahlung bewirkt Fehlen einer Vaginalplatte (F). — Die Vaginalplatten müssen somit paarig angelegt sein. Die Lage der Felder kann noch nicht genau angegeben werden, da Vorn-hinten-Experimente fehlen.

Senkrecht zur Achse der Vaginalplatten stehen bei der Imago eine dorsale und eine ventrale Analplatte. Die beiden Platten lassen sich an ihrem Dornenbesatz leicht unterscheiden. Nach Lateralbestrahlung entstehen je eine dorsale und eine ventrale „Halbplatte“ (E); die Borstenzahl ist halbiert; von den beiden für die dorsale Platte typischen Langborsten fehlt eine. Das lässt bereits den Schluss zu, dass sowohl dorsale, als auch ventrale Analplatte aus je zwei Anlagebezirken entstehen, die in den Seitenflügeln der Genitalscheibe liegen. Bei intensiver Medianbestrahlung bleibt die dorsale Platte ungeschädigt, während die ventrale in ähnlichem Masse betroffen wird wie die Vaginalplatte (B). Nach Paramedianbestrahlung fehlt häufig eine ventrale Halbplatte, ohne dass gleichzeitig die dorsale Halbplatte geschädigt wird (F). — Wir schliessen daraus, dass das Areal für die ventrale Halbplatte seitlich an das Vaginalplattenfeld anschliesst. Noch weiter lateral muss sich die Anlage für die dorsale Halbplatte befinden. Vorn-hinten-Versuche fehlen noch.

4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE UND KRITIK DER METHODIK.

Abb. 2 stellt das Anlagemuster dar, wie es sich aus den bisherigen Versuchen ergibt. Danach ist in der Genitalscheibe der verpuppungsreifen Larve mosaikartig jedem späteren Strukturelement des Geschlechtsapparates ein Anlagebezirk zugeordnet. Es ist bisher durch UV-Strahlenstich nicht gelungen, einzelne Felder

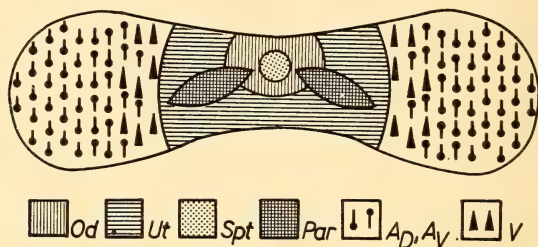


ABB. 2.

Anlagemuster der weiblichen Genitalscheibe verpuppungsreifer Larven. Bezeichnungen wie in Abb. 1.

zu Mehrfachbildungen anzuregen, wie das nach mechanischer Fragmentation des Spermathekenfeldes beobachtet wurde (HADORN und CHEN, 1956). Nun können aber Fragmentierungs- und Bestrahlungsexperiment nicht direkt verglichen werden. Ein mechanisch zerteiltes Feld ist nach der Schnittseite „offen“; beim Bestrahlungsexperiment sind zunächst noch strahlengeschädigte Zellen im Feld vorhanden, die mechanisch oder chemisch eine Regulation verhindern können. Ausserdem lässt sich immer dann nichts aussagen über Regulationsverhalten, wenn trotz Bestrahlung z. B. der medianen Region beide Spermatheken ausgebildet werden (häufig bei Dosen < 15 sec.) Entstehen in diesen Fällen die Samentaschen regulativ oder deshalb, weil überhaupt keine Zellen abgetötet worden sind?

Die Strahlenstich-Defektmethode scheint somit sehr geeignet für die entwicklungsphysiologische Analyse von mosaikartigen Anlagemustern in Blastemen, die wegen Kleinheit und ungünstiger Konsistenz schwer operierbar sind. Für den Nachweis von Regulationsverhalten ist die Technik offenbar in unserem Beispiel nicht geeignet.

5. SUMMARY.

Different regions of genital discs of late third instar larvae have been irradiated by a pencil of ultraviolet light. These discs, when implanted into the body cavity of host larvae, developed into genital ducts characteristically damaged according to the irradiated region. Thus a mosaic of primordia is demonstrated.

The spermathecae field seems to be of monocentric organization.

LITERATUR

- DOBZHANSKY, Th. 1930. *Studies on the intersexes and supersexes in Drosophila melanogaster*. Bull. Bureau of Genetics, 8.
- HADORN, E. und H. GLOOR. 1946. *Transplantationen zur Bestimmung des Anlagemusters in der weiblichen Genital-Imaginalscheibe von Drosophila*. Rev. suisse Zool., 53.
- HADORN, E., G. BERTANI und J. GALLERA. 1949. *Regulationsfähigkeit und Feldorganisation der männlichen Genital-Imaginalscheibe von Drosophila melanogaster*. Roux' Archiv 144.
- und P. S. CHEN. 1956. *Die Feldorganisation der Spermatheken-Anlage bei Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool., 63.

Nº 19. **H. Mislin** und **H. Helfer**, Mainz. — Erregungsleitung in der Wand der Flughautvenen (Chiroptera-Dreivenenpräparat). (Mit 3 Textabbildungen.)

(Zoologisches Institut der Universität Mainz.)

Zum sicheren Nachweis einer Erregungsleitung in der Wand der Flughautvenen (Chiroptera) haben wir, ausgehend vom Präparat des Venensäckchens (MISLIN 1947a), ein für die Kontrolle der Überleitungseffekte neues und übersichtlicheres Gefäßpräparat, das sogenannte Dreivenenpräparat (MISLIN 1956) entwickelt.

Aus den Chiropatagien in den Fingerwinkeln von Fledermäusen und Flughunden isolierten wir Systeme symmetrisch-dichotomer Venenverzweigungen. Der ausgeschnittene und vom umliegenden Coriumgewebe befreite Venenkomplex zeigt in der adäquaten Ringerlösung (NaCl 0,9760%, CaCl_2 0,0455%, KCl 0,0704%, P 0,0135%, Mg 0,0470%, Glukose 0,0430%, Modocoll M. 1,2500%) und in Rinderserum aktiv-autonomen Puls. Es gelingt in die

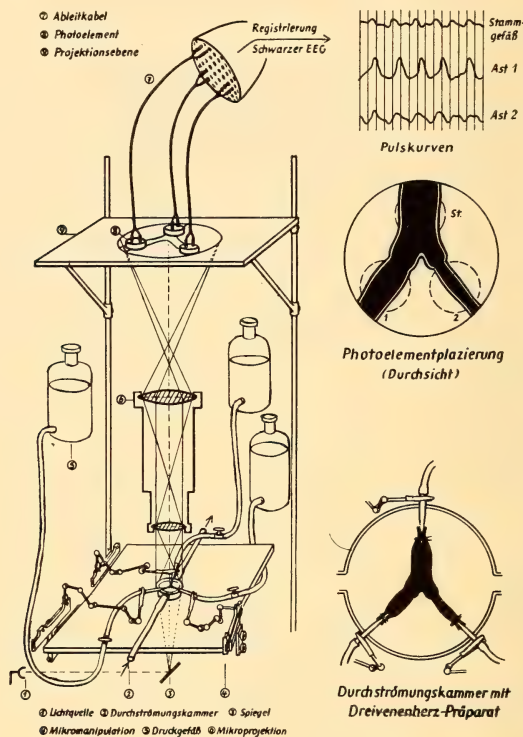


ABB. 1.

Photoelektrische Anordnung.

Venenverzweigung, die aus Stammgefäß und zwei Venenästen besteht, Kanülen einzubinden. Die Präparation erfolgt auf einer Durchströmungskammer, die von einer Zirkulationspumpe aus mit Wasser von konstanter und beliebiger Temperatur durchströmt wird. Jedes der drei Venenenden steht mit einer Druckanordnung in Verbindung. Das so montierte Dreivenenpräparat kann auf

zwei Wegen durchströmt werden: vom linken Ast durch den Stamm und vom rechten Ast durch den Stamm. An den Übergängen der Venenäste zum Stamm sitzen dicht schliessende Klappen, so dass eine Durchströmung der Äste vom Stamm aus nicht möglich ist. Damit liegen ideale Bedingungen zur Prüfung von

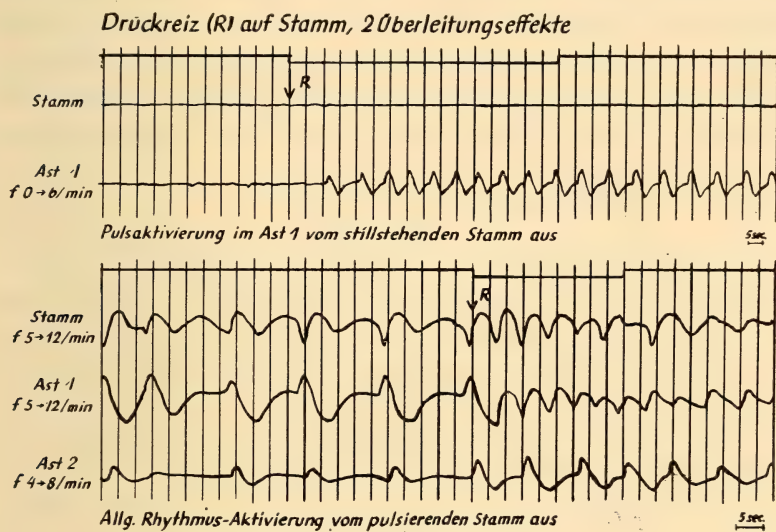


ABB. 2.

Zwei Kurven mit induziertem Puls bzw. Pulsaktivierung am Dreivenenpräparat (Fledermaus).

Überleitungseffekten durch Druckreize vor. Erhöhung des Binnen-druckes im Venenstamm kann sich hydrostatisch nicht auf die Astvenen auswirken. Die Auslösung von reaktiven Venenkontraktionen, die mit Sicherheit auf reine Erregungsüberleitung zurückzuführen sind, kann am Dreivenenpräparat eindeutig demonstriert werden. Für die Registrierung der Venenkontraktionen verwenden wir eine photoelektrische Anordnung. Das einfallende Licht einer Niedervoltlampe (mit Regeltransformator und Fixvolter) fällt über Spiegel durch Kondensator, Durchströmungskammer, Objekt und Objektiv direkt auf Photoelemente, die auf einer Glasscheibe in der Projektionsebene an die kontrollierten Venenstellen gesetzt werden. Die Gefässkontraktionen und Dilatationen geben Schwankungen in der Gesamtbelichtung der Photoelemente und entsprechende Schwankungen im Photostrom (MISLIN 1941).

Die Potentialänderungen werden abgegriffen und einem Messgerät zur Registrierung zugeleitet. Wir verwenden dazu den Schwarzer-Elektroencephalographen auf niedrigster Verstärkerstufe und erhalten eine vollständig wirklichkeitstreue Wiedergabe des Rhythmus des Venenpulses (Abb. 1).

Zur einwandfreien Kontrolle einer möglichen Erregungsüberleitung sind induzierte reaktive Kontraktionen wichtig, die an einem vorher absolut ruhigen Dreivenenpräparat auftreten (Abb. 2).

Das obere Kurvenbild zeigt die Registrierung bei zunächst stillstehendem Präparat. Der rechte Ast (Ast 2) ist weggelassen, da

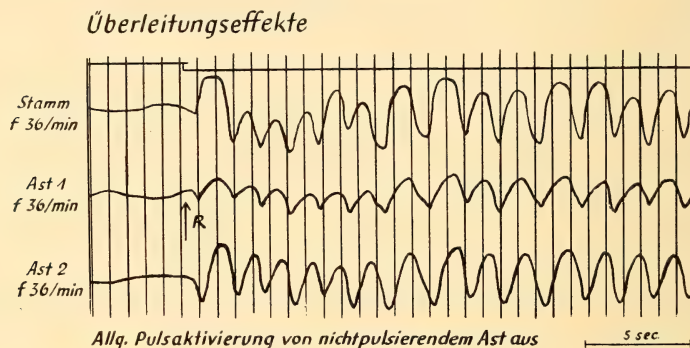


ABB. 3.

Pulsinduktion am Dreivenenpräparat.

er keine Reaktion zeigte. Bei diesem Versuch wurde bei R im Venenstamm der Binnendruck von 5 cm H₂O auf 10 cm H₂O erhöht. Während dieser Druckreiz im Stammgefäß selber keinen Puls auslöste, hat er im Ast 1 nach einer Latenzzeit von 10 Sekunden einen regelmässigen Puls von 6 pro Minute induziert. Der Binnendruck im Astgefäß war bei 3 cm H₂O. Die Temperatur betrug 17/ C. Die Eigenfrequenz des reaktiven Astes entsprach seiner eigenen Binnendruckabhängigkeit (MISLIN 1947). Da der Druckanstieg im Venenstamm infolge des Venenklappenverschlusses lokalisiert bleiben musste, ist mit diesem Experiment eine Überleitung der künstlich gesetzten Erregung von Stamm zum Venenast bewiesen.

Die unteren Kurven der Abb. 2 zeigen, dass der intravasculäre Dehnungsreiz im bereits pulsierenden Stamm in den Venenästen

bei kleinerer Latenzzeit eine mehr als verdoppelte Eigenfrequenz induzieren kann.

Das Experiment ergibt, dass beim pulsierenden Präparat günstigere Bedingungen für Überleitungseffekte vorhanden sind.

Das nächste Beispiel beweist, dass auch von den Venenästen aus Überleitungseffekte zu erhalten sind (Abb. 3). Das Präparat steht bei Versuchsbeginn praktisch still. Bei R wird im Ast 1 ein konstanter Druckreiz gegeben. Der Binnendruck wird von 3 cm H₂O auf 10 cm H₂O erhöht. Infolgedessen erhöht sich der Binnendruck im Stamm ganz entsprechend, was zu einem synchronen Frequenzanstieg in beiden Venenabschnitten führt. Auffallend ist nun die gleichzeitige und synchrone Pulsaktivierung im Ast 2, die nur auf Erregungsübertragung zurückzuführen ist.

Zusammenfassend können wir sagen, dass am Dreivenenpräparat die Erregungsleitung in der Gefäßwandung vom Stamm auf die Äste und von diesen auf den Stamm und ebenso von Ast auf Ast erfolgt. Die Erregungsübertragung kann sowohl distalwärts, wie proximalwärts, als auch lateralwärts verlaufen. Unsere Versuche haben weiter auch bewiesen, dass die übergeleiteten Erregungen als Folge der direkten passiven Kontraktion im entferntliegenden und hydrostatisch nicht gekoppelten Venenabschnitt zu betrachten sind, und dass Kontraktilität und Konduktibilität in der Venenwand physiologisch zu trennende Erscheinungen sind. M. MONNIER (1943, 1944) hat an isolierten Mesenterialarterien von Rindern, am sogenannten „Zweizipfelpräparat“, die funktionellen Gefässpotenzen eingehend analysiert. Er findet Reizbildung, Erregungsleitung und autonome Anpassung in bestimmter Abhängigkeit von Milieubedingungen, und sieht darin primitive Potenzen, die das Arteriensystem mit dem hochgradig spezialisierten Herzen gemeinsam hat. Die mit dem Dreivenenpräparat gewonnenen Resultate lassen erkennen, dass die genannten Potenzen bei den Flughautvenen nicht unter Kontrolle der zentralen Einflüsse stehen, sondern zeigen, dass zwischen den benachbarten Venenabschnitten offenbar eine rein myogene Induktion wirksam ist. Schon W. R. HESS (1918) hat auf die periphere Assoziation dieser Venenverzweigungen hingewiesen. Laufende Untersuchungen über Latenzzeit, Leitungsgeschwindigkeit und Einfluss der übergeleiteten Erregungen auf die Kontraktionsbereitschaft in Abhängigkeit von Temperatur, Dehnungsreizen und chemischen Faktoren, werden

die funktionelle Bedeutung der automatischen Venentätigkeit auf vergleichender Basis zur Diskussion stellen.

Der deutschen Forschungsgemeinschaft sei der Dank für die gewährte Unterstützung ausgesprochen.

LITERATUR

- MISLIN, H. 1947. *Das Präparat des Venensäckchens*. Helv. Physiol. Acta 5, C3-C4.
- 1956. *Das isolierte „Dreivenenherz-Präparat“ (Chiroptera) und seine Funktionsanalyse*. XX^e Congrès International de Physiologie, Bruxelles 30 juillet-4 août. Résumés des Communications, p. 649.
- 1941. *Über die Venenperistaltik der Chiroptera*. Revue suisse de Zoologie, T. 48, Nr. 21, p. 563-568.
- 1947. *Temperatur und Druckabhängigkeit der isolierten, autonomen Flughautvene (Chiroptera)*. Helv. Physiol. Acta 5, C18-C19.
- MONNIER, M. 1943. *Die Erregungsleitung in der Arterienwand*. Helv. Physiol. Acta Vol. 1. Fasc. 2, C78.
- 1943. *Erregungsleitung in der Arterienwand*. Helv. Physiol. Acta 1: 249-264.
- 1944. *Reizbildung in der Arterienwand*. Helv. Physiol. Acta 2: 279-303.
- 1944. *Die funktionellen Potenzen der isolierten Arterie*. Helv. Physiol. Acta Vol. 2. Fasc. 3, C47.
- HESS, W. R. 1918. *Untersuchungen über den Antrieb des Blutstromes durch aktive Gefäßpulsationen*. Pflügers Archiv Bd. 173.
-

N^o 20. **Ernst Hadorn**, Zürich. Über die Bildung der roten Augenpigmente von *Drosophila melanogaster* in Transplantaten.

(Aus dem Zoologisch-vergleichend anatomischen Institut der Universität Zürich ¹.)

1. PROBLEME UND METHODE.

Bei verschiedenen genphysiologischen Untersuchungen (vgl. HADORN und MITCHELL 1951; HADORN und SCHWINK 1956) wurden die Mengen an fluoreszierenden Stoffen (Pterinen) bestimmt, die im Gesamtkörper oder in einzelnen Organen von *Drosophila* vorkommen. Dabei zeigten sich namentlich bei Implantationsversuchen, die zur Prüfung der phänogenetischen Autonomie angestellt wurden, eine Reihe von neuen Fragestellungen, von deren Lösung eine weitergehende Analyse abhängen wird. Die vorliegende Arbeit befasst sich ausschliesslich mit den roten Augenfarbstoffen der Wildrasse. Es handelt sich dabei um drei chemisch nahe verwandte Stoffe, die als Drosopterin, Isodrosopterin und Neodrosopterin bezeichnet wurden (VISCONTINI, HADORN und KARRER 1957). Zunächst ist festzustellen, welche Pigmentmenge ein implantiertes Auge im Vergleich zu einem Wirtsauge bilden kann (S. 318). Dann untersuchen wir die allfälligen geschlechtsspezifischen Unterschiede bei Implantaten, die sich in gleichgeschlechtigen oder verschiedengeschlechtigen Wirten entwickeln (S. 319). Ausserdem interessieren wir uns für die Auswirkung von Altersdifferenzen zwischen Spender und Wirt (S. 320). Sodann fragen wir, ob eine obere Grenze der Pigmentbildungsfähigkeit in solchen Wirtsorganismen erreicht wird, die eine steigende Anzahl zusätzlicher Augen mit Drosopterin zu beschicken haben (S. 321). Schliesslich wurden noch Pigmentmengen in Augenimplantaten bestimmt, die sich aus halbierten Imaginalscheiben entwickeln. Dabei soll ein Mass für

¹ Ausgeführt mit Unterstützung der Georges und Antoine Claraz-Schenkung.

eine allfällig sich auswirkende Regulationsfähigkeit gewonnen werden (S. 323).

Die Implantation der Augenimaginalscheiben erfolgte im III. Larvenstadium nach der im wesentlichen von EPHRUSSI und BEADLE (1936) entwickelten Technik. Alle Angaben beziehen sich auf den gut fertilen Laboratoriums-Wildstamm „Sevelen“ und für eine Zuchttemperatur von $25 \pm 0,5^\circ \text{C}$. Der Drosopteringehalt der Wirts- und Implantatsaugen wurde bei Fliegen vier Tage nach dem Schlüpfen bestimmt. Dabei bedienten wir uns einfacher papierchromatographischer (HADORN und MITCHELL 1951) und fluorometrischer Methoden (HADORN und KÜHN 1953). Pro Startfleck wurden überall zwei lebensfrische Implantatsaugen oder ein Wirtskopf aufgetragen. Da die Drosopterine intensiv gelborange fluoreszieren, können die Pigmentmengen leicht direkt vom „entwickelten“ Papierfleck gemessen werden.

2. ERGEBNISSE.

a) Vergleich: Implantat-Wirt.

Implantierte Augenanlagen erreichen im metamorphosierenden Abdomen niemals die für „Augen in situ“ charakteristische Grösse. Dies wird darauf beruhen, dass bei losgelösten Imaginalscheiben die Evagination unterbleibt. Das Organ differenziert sich dann invers, so dass in einem Implantatsauge die Fazettenoberfläche nach innen gerichtet ist. Diese Störung der Formbildung wird aber

TABELLE 1.

Pigmentwerte (PW) für gleichgeschlechtige und verschiedengeschlechtige Wirt-Implantatskombinationen.

n = Zahl der Messungen (je 2 Augen).

Serie	Wirt			Implantat		
	Ge- schlecht	<i>n</i>	PW	Ge- schlecht	<i>n</i>	PW
<i>a</i>	♀	42	$50,9 \pm 0,70$	♀	54	$32,3 \pm 0,74$
<i>b</i>	♀	40	$50,2 \pm 0,66$	♂	56	$30,0 \pm 0,64$
<i>c</i>	♂	48	$42,8 \pm 0,59$	♂	60	$29,7 \pm 0,48$
<i>d</i>	♂	50	$43,3 \pm 0,57$	♀	56	$29,4 \pm 0,73$

auch, was durchaus nicht selbstverständlich ist, von einer Verminderung der Pigmentbildung begleitet. Wir finden in allen Versuchsanordnungen (Tab. 1—3; Abb. 1) in den Implantaten lediglich 60—70% der Drosophierinmenge, die für Wirtsaugen gemessen wurde. Dabei wissen wir allerdings nicht, ob diese Minderleistung als unmittelbare Folge der abnormen Formbildung und des gehemmten Augenwachstums zu deuten ist, oder ob das abdominale Milieu an sich und direkt die Pigmentsynthese im angegebenen Ausmasse beeinträchtigt.

b) *Geschlechtsunterschiede.*

Da die Weibchen von *Drosophila* grösser sind als die Männchen, haben sie grössere Augen. Diesem Unterschied entspricht auch ein höherer Drosophieringehalt pro Auge (Tab. 1). In unseren Versuchsserien verhalten sich die Pigmentmengen wie 1,17: 1 (Weibchen: Männchen).

Es war nun zu untersuchen, ob und in welchem Ausmasse die Pigmentbildung der Implantate durch das Geschlecht und damit auch durch die Grösse des Wirtes beeinflusst wird. Aus Tab. 1 ist zunächst ersichtlich, dass am meisten Farbstoffe in der Kombination (a) gebildet werden, wo weibliche Scheiben in weibliche Wirtslarven implantiert wurden. Der Mittelwert von $32,3 \pm 0,74$ ist gegenüber den Mittelwerten jeder anderen Serie (b, c oder d) mit p-Werten $< 0,05$ als verschieden gesichert. Aus dem Vergleich von Serie b (männliches Implantat in weiblichen Wirten) mit der Serie a geht hervor, dass die genetische Konstitution der implantierten Imaginalscheibe eine Rolle spielt. Dass aber auch das Wirtsmilieu die Pigmentbildung der Implantate beeinflussen kann, schliessen wir aus der Gegenüberstellung der Serie d (weibliche Scheiben in männlichen Wirten) mit der Serie a.

Eine abschliessende Interpretation dieser Ergebnisse ist nicht möglich. Wahrscheinlich kann unter den gegebenen Experimentalbedingungen der Maximalwert nur erreicht werden, wenn (erstens) das Implantat die für eine höhere Pigmentmenge notwendige weibliche Konstitution hat und wenn (zweitens) ein weibliches Wirtsmilieu die volle Manifestation dieser inhärenten Entwicklungspotenzen begünstigt. Nach diesen Befunden wurde für die weiteren Versuchsanordnungen vornehmlich die Weibchen — Weibchen Kombination verwendet.

c) Altersunterschiede zwischen Spender und Wirt.

Da die Grösse der Imaginalscheiben auch bei gleichalterigen Spenderlarven nicht selten erheblich variieren kann, mussten wir untersuchen, ob dadurch die Pigmentmenge der metamorphosierenden Implantatsaugen beeinflusst wird.

In den Versuchsserien der Tab. 2 werden als Wirte überall Larven des III. Stadiums gewählt, die 8—16 Stunden nach der Implantation puparisieren (III ge = gegen Ende des III. Stadiums). Dagegen wird das Alter der Implantate und damit die durchschnitt-

TABELLE 2.

Pigmentwerte (PW) für Kombinationen mit Altersdifferenzen zwischen Spender und Wirt: III a, III m, III ge, III e = Anfang, Mitte, gegen Ende und Ende des 3. Larvenstadiums.

n = Zahl der Messungen (je 2 Augen).

Serie	Wirt ♀			Implantat ♀		
	Alter	<i>n</i>	PW	Alter	<i>n</i>	PW
<i>a</i>	III ge	6	50,0 ± 2,28	III a	6	17,1 ± 2,53
<i>b</i>	III ge	12	50,7 ± 1,48	III m	12	27,8 ± 2,06
<i>c</i>	III ge	18	52,7 ± 1,22	III ge	18	31,6 ± 1,22
<i>d</i>	III ge	10	48,0 ± 1,30	III e	10	31,3 ± 1,48

liche Grösse der Scheiben variiert (Serien a-d). Für Serie a verwenden wir die noch kleinen Scheiben aus Larven, die am Anfang des III. Stadiums (III a) stehen. In der Serie b haben die Spender die „Mitte“ des III. Stadiums erreicht (III m); ihre Augenscheiben sind noch wesentlich kleiner als diejenigen verpuppungsreifer Larven. Die Spender der Serie c (III ge) haben das Wachstum noch nicht völlig abgeschlossen; dabei haben auch die Scheiben noch nicht die larvale Endgrösse erreicht. Erst die Serie d liefert voll ausgewachsene Augenscheiben (III e).

Die Pigmentwerte der Implantate zeigen, dass zu junge Scheiben (III a, aber auch noch III m) nicht die für Implantate mögliche Endgrösse erreichen. Offenbar wurden diese Implantate durch den metamorphosierenden Wirt vorzeitig zur imaginalen Differenzierung gezwungen, d. h. bevor sie ihr larvales Wachstum beenden konnten. Dagegen liefert die Serie c ebenso grosse Augen mit

ebenso viel Pigment wie die Serie d. Nach weiteren, hier nicht aufgeführten Versuchsreihen erreichen III ge — Scheiben aber auch dann die volle Pigmentmenge, wenn sie in unmittelbar verpuppungsreife Wirte (III e) implantiert werden. Hier gelingt es ihnen, den Wachstumsrückstand aufzuholen. Auf Grund all dieser Befunde wissen wir nun, dass maximale Pigmentwerte nur dann erreicht werden, wenn die Altersunterschiede zwischen Spender und Wirt nicht zu gross sind. Innerhalb einer Zeitspanne, die ca. 12 Stunden vor der Puparisierung beginnt und bis zur Puparisierung dauert, darf beliebig variiert und kombiniert werden.

d) *Augenzahl und Pigmentwerte.*

Werden Augenscheiben der Wildrasse in die Mutante *rosy* (*ry*²) implantiert, so bilden sie nur 30—50% jener Drosoplerinmenge, die für Wildaugen in Wildwirten charakteristisch ist (HADORN und SCHWINCK 1956). Diese „Nicht-Autonomie“ könnte darauf beruhen, dass im *ry*² — Wirt nicht genügend Stoffe zur Pigmentsynthese zur Verfügung stehen. Wir fragen nun, ob sich eventuell auch im Wildgenotypus eine Situation verwirklichen lässt, die eine obere Grenze der Pigmentbildungs-Fähigkeit aufdecken müsste. Wir stellten daher dem Individuum die Aufgabe, zusätzliche Augen mit Pigment zu versorgen. In der Abb. 1 verglichen wir Serien, die mit 1, 2, 3, 4, 6, resp. 8 — Implantaten besetzt wurden. Auch jene Larven, die 8 Abdominalaugen enthalten, entwickeln sich zu normalen Fliegen, deren Sterblichkeit kaum vermehrt ist.

Zunächst stellen wir fest (Abb. 1, oben), dass die Pigmentmenge der Wirtsaugen mit der ansteigenden Zahl zusätzlicher Implantatsaugen keineswegs abnimmt. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede der Mittelwerte. Die Implantate entziehen somit den Wirtsaugen keine für die Drosoplerinbildung notwendigen Stoffe.

Für die Implantatsaugen sind alle Einzelwerte aufgetragen. Die Streuung reicht von 20—40 Messeinheiten. Bis zur Serie mit 4 Implantatsaugen ist kein Abfall sichtbar. Dagegen scheinen die Mittelwerte der Serien mit 6 und 8 Implantatsaugen etwas tiefer zu liegen. Doch ist der Unterschied gegenüber den Serien mit 1—4 Implantaten nicht gesichert. Trotzdem könnte eine leichte Minderleistung vorliegen, die wahrscheinlich darauf beruhen würde,

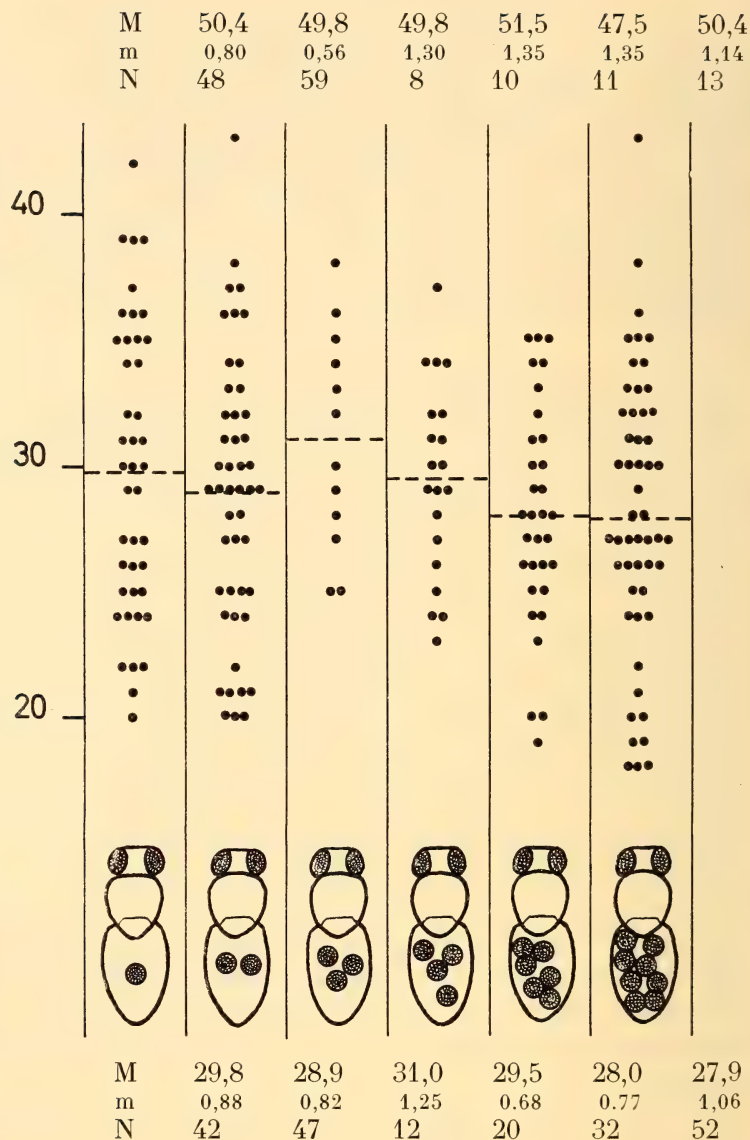


ABB. 1.

Mittelwerte (M) mit ihren mittleren Fehlern (m) der Pigmentwerte für Wirtsaugen (oben) und Implantatsaugen (unten). Zahl der Messungen = N für je 2 Augen. Die Punktschwärme (Mitte) geben die Streuung der Einzelmessungen für die Implantatsaugen an. Ordinate: Messwerte der Fluoreszenzintensität. 6 Versuchsserien mit 1—8 Implantaten (Skizzen der Fliegen). Die Mittelwerte der Implantate sind mit einer punktierten Querlinie bezeichnet.

dass in den überladenen Abdomen einzelne Scheiben leichter mit anderen verwachsen. Solche „Doppelaugen“ enthalten auch in den Serien mit 2—4 Augen gelegentlich etwas weniger Pigment als isolierte Einzelaugen.

Als Hauptbefund halten wir fest, dass der Körper der Wildrasse befähigt ist, die für Augen spezifischen Drosopterine in Quantitäten zu bilden, welche die Normalmenge um ein Mehrfaches übertreffen. Dieses Ergebnis ist deshalb von besonderem Interesse, weil die Implantate in ein biochemisch abgeschlossenes System eingeführt werden. Die Wirte verpuppen sich kurz nach der Implantation und die Pigmentsynthese erfolgt während des Puppenstadiums, d. h. zu einer Zeit, da jegliche Zufuhr organischer Stoffe unterbunden ist. Somit enthält die genetisch normale Puppe alle für die Drosopterinebildung notwendigen Vorstufen in einer Menge, die normalerweise nie erschöpft ist und im Experiment bis zur Bildung von mindestens 10 Augen ausreicht. Diese Feststellung dürfte für die Interpretation einzelner Mutanten wichtig sein.

e) *Halb- und Ganzscheiben.*

Aus Untersuchungen über das Regulationsvermögen der Genitalimaginalscheiben (vgl. HADORN, BERTANI und GALLERA 1949, HADORN und CHEN 1956) ging hervor, dass implantierte Scheibenfragmente fähig sind, Organe von Normalgrösse zu differenzieren. So kann z. B. eine männliche Genitalscheibe, falls sie dreigeteilt wird, 6 Analplatten von Normalgrösse bilden.

Da das Messen der Drosopterinenmenge Aufschluss gibt über die Grösse von Augen, muss sich diese Methode auch dazu eignen,

TABELLE 3.

Vergleich der Pigmentwerte (PW) für implantierte Halb- (H) und Ganzscheiben (G).

n = Zahl der Messungen (je 2 Augen, 2 Ganzscheiben oder 4 Halbscheiben).

Serie	Wirt		Implantat	
	<i>n</i>	PW	<i>n</i>	PW
H	55	50,2 ± 0,58	60	31,8 ± 0,79
G	35	49,4 ± 0,71	35	29,0 ± 1,01

ein allfälliges Regenerations- oder Regulationsvermögen der larvalen Augenanlage festzustellen. Es liegt diesbezüglich erst eine Vergleichsserie vor (Tab. 3). Augenscheiben der Stadien III ge bis III e wurden median zerschnitten und die Hälften in Wirte des Stadiums III ge implantiert.

Aus Tab. 3 geht hervor, dass der Mittelwert für die Messpunkte der „Halbaugen“ (je 4 pro Messpunkt) höher ist, als der Kontrollwert (je 2 Implantatsaugen). Der Unterschied ist mit einem p von $< 0,05$ knapp gesichert. Die Regenerationsaktivität ist somit relativ gering und erreicht keineswegs das für Genitalscheiben gleichen Alters charakteristische Ausmass. M. Vogt (1946) untersuchte die Regeneration für zerschnittene Augenscheiben von *Drosophila hydei*. Sie fand für ein Halbscheibenpaar eine um 41—46% erhöhte Fazettenzahl gegenüber einer Ganzscheibe. Diese ansehnliche Mehrleistung kann — abgesehen davon, dass eine andere Species verwendet wurde — nicht direkt mit unseren Versuchen verglichen werden, da zu Beginn des III. Larvenstadium fragmentiert und transplantiert wurde.

SUMMARY:

By using chromatographic and fluorometric methods, the quantities of the red eye pigments (drosopterines) have been determined comparatively in transplanted and host eyes. The results are:

1. Eyes which develop from larval transplanted discs do not form more than 60—70% of the pigments present in a host eye in situ.
2. The amount of pigment is influenced by the sexual constitution of the disc as well as by the sex (and size) of the host.
3. The influence of age differences between donor and host has been determined.
4. From series of experiments where one to eight implants were grown in a single host, it can be concluded that a wild type pupa is self sufficient in the synthesis of the red eye pigments required for at least 10 eyes.
5. The capacity for regeneration was determined in parts of eyes which developed from half a disc.

LITERATURVERZEICHNIS

- EPHRUSSI, B. and G. W. BEADLE. 1936. *A technique of transplantation for Drosophila*. Amer. Nat. 70: 218.
- HADORN, E. und P. S. CHEN. 1956. *Die Feldorganisation der Spermatheken-Anlage bei Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. 63: 268.
- und A. KÜHN. 1953. *Chromatographische und fluorometrische Untersuchungen zur biochemischen Polyphänie von Augenfarb-Genen bei Ephestia kühniella*. Z. Naturforsch. 8b: 582.
- and H. K. MITCHELL. 1951. *Properties of mutants of Drosophila melanogaster and changes during development as revealed by paper chromatography*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 37: 650.
- und I. SCHWINCK. 1956. *Fehlen von Isoxanthopterin und Nicht-Autonomie in der Bildung der roten Augenpigmente bei einer Mutante (rosy²) von Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 87: 528.
- G. BERTANI und J. GALLERA. 1949. *Regulationsfähigkeit und Feldorganisation der männlichen Genital-Imaginalscheibe von Drosophila melanogaster*. Roux' Arch. 144: 31.
- VISCONTINI, M., E. HADORN und P. KARRER. 1957. *Fluoreszierende Stoffe aus Drosophila melanogaster: Die roten Augenfarbstoffe*. 5. Mitteilung. Helvet. chim. Acta 40 (im Druck).
- VOGT, M. 1946. *Zur labilen Determination der Imaginalscheiben von Drosophila*. I. Verhalten verschiedenaltiger Imaginalanlagen bei operativer Defektsetzung. Biol. Zentralbl. 65: 223.
-

N^o 21. **Rudolf Weber**, Bern. — Die Kathepsinaktivität im Schwanz von *Xenopus*larven während Wachstum und Metamorphose ¹.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Bern.)

*Herrn Prof. A. PORTMANN in dankbarer Verbundenheit
zum 60. Geburtstag gewidmet.*

1. EINLEITUNG.

Die organische Substanz tierischer Zellen enthält vorwiegend Proteine. Infolgedessen müssen Wachstum und Differenzierung chemisch als quantitative oder qualitative Verschiebungen im Bestand der Zellproteine in Erscheinung treten. Die Proteine sind aber nicht nur Produkte des Zellstoffwechsels, sondern es besteht auch die Möglichkeit, dass sie als Fermente selbst in das Geschehen eingreifen. Somit stellt sich die Frage, wie chemische Umsetzungen, insbesondere solche von Proteinen, mit morphogenetischen Prozessen verknüpft sind.

Als vermutliche Werkzeuge der Proteinsynthese in Zellen werden immer wieder die sog. Kathepsine angeführt (z. B. HAURWITZ 1950); als solche bezeichnet man intrazelluläre Proteasen, die „in vitro“ bei schwach saurer Reaktion Proteine zu Peptiden abbauen. Untersuchungen an Amphibienkeimen (LØVTRUP 1955, URBANI 1955) ergaben eine vorübergehende Zunahme der Kathepsinaktivität während der Entwicklung; diese wurde im Sinne einer synthetischen Funktion des Kathepsins gedeutet. In entsprechender Weise wurden Befunde an regenerierenden Geweben (MAVER, GRECO, LØVTRUP und DALTON 1952) interpretiert.

Eigene Untersuchungen an regenerierenden Schwanzspitzen von *Xenopus*larven ergaben für auswachsende Renenerate eine progressive Abnahme der Kathepsinaktivität (DEUCHAR, WEBER und

¹ Ausgeführt mit teilweiser Unterstützung durch den „Schweizerischen Nationalfonds“.

LEHMANN 1957). Ferner fanden wir bei starker Regenerationshemmung durch histostatisch wirkende Stoffe eine beträchtliche Zunahme der Kathepsinaktivität (JENSEN, LEHMANN und WEBER 1956). Diese Befunde sprechen eher für eine proteolytische Funktion des Kathepsins.

Die larvale Entwicklung des Anurenschwanzes bietet nun ideale Voraussetzungen, um die Frage der Kathepsinfunktion abzuklären; sie zerfällt hinsichtlich der morphogenetischen Prozesse in eine Wachstums- und eine Resorptionsphase, was chemisch Aufbau bzw. Abbau von Gewebeproteinen bedeutet. Die ersten Versuche mit *Xenopus*larven (WEBER 1957 a) liessen bereits erkennen, dass sich diese morphogenetisch extrem verschiedenen Phasen hinsichtlich der Kathepsinaktivität klar unterscheiden. Die vorliegende Mitteilung stützt sich auf ein umfangreicheres Material; die vergleichende Betrachtung der biochemischen Ergebnisse erlaubt nun eine eindeutige funktionelle Interpretation des Kathepsinsystems.

2. MATERIAL UND METHODEN.

Die *Xenopus*larven wurden in kleinen Gruppen unter optimalen Fütterungsbedingungen bei 20° C gehalten. Bei Metamorphosebeginn (Durchbruch der Vorderbeine, GASCHE 1944) wurden die Larven isoliert und einzeln ohne Futter in glasdestilliertem Wasser belassen.

Da die Entwicklungsdauer bei gegebener Temperatur stark von den Fütterungsbedingungen abhängt (GASCHE *l. c.*), diente die Schwanzlänge (hintere Insertionstelle der Hinterbeine—Schwanzspitze) zur Kennzeichnung der Stadien.

Für die biochemischen Untersuchungen wurden die Schwänze auf der Höhe des Afters amputiert und in glasdestillierten Wasser homogenisiert (Eiskühlung).

Die Bestimmung der Kathepsinaktivität erfolgte colorimetrisch nach der von DUSPIVA (1939) ausgearbeiteten Methode (s. auch DEUCHAR, WEBER und LEHMANN *l. c.*); es wurde folgender Ansatz verwendet: 10 mm³ Homogenat + 100 mm³ 1% Casein-Harnstoffsubstrat (pH 4,9). Nach 18 h Inkubation bei 40° C, Fällung mit 1 cm³ Trichloressigsäure. Das gefällte (nicht gespaltene) Casein wird durch Zentrifugierung niedergeschlagen, 1 cm³ des Überstehenden, mit je 1 cm³ Folinreagens und 13,5% Na₂CO₃-Lösung

versetzt, und hierauf die Spaltprodukte colorimetrisch (780 m μ) bestimmt.

Die Enzymumsatzkurve (Abb. 1) lässt erkennen dass keine proportionale Beziehung zwischen Homogenat- bzw. Kathepsinkonzentration und Aktivität besteht. Es wurde daher willkürlich

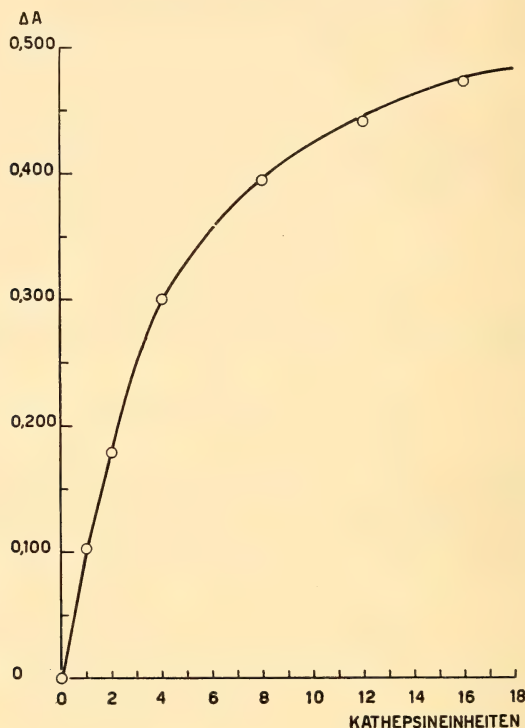


ABB. 1.

Enzymumsatzkurve.

Die Ordinate stellt die Spaltungswerte (ΔA = korrigierte Extinktionswerte) dar; die Abszisse gibt die Homogenat- bzw. Kathepsinkonzentration in willkürlichen „Kathepsin-Einheiten“. Jeder Punkt bedeutet das Mittel aus 3 Ansätzen.

eine sog. „Kathepsineinheit“ (KE) festgelegt. Die gemessenen Spaltungswerte (ΔA) wurden an Hand der Standardkurve in Kathepsineinheiten umgewandelt. Die Genauigkeit der Kathepsinbestimmungen beträgt im Mittel $\pm 0,2$ KE.

Als Mass für die in den Homogenatproben enthaltenen Gewebemengen diente der Gesamtstickstoff (TN), der mittels der Mikro-

methode von BOELL und SHEN (1954) mit einer Genauigkeit von $\pm 0,10 \mu\text{g}$ bestimmt werden konnte.

Bezieht man die KE auf die entsprechende Menge TN, so erhält man die sog. „spezifische Aktivität“, welche eine vergleichbare Grösse für die durchschnittliche Kathepsinkonzentration im Schwanzgewebe darstellt. Ihre Genauigkeit beträgt im Durchschnitt $\pm 0,05 \text{ KE}/\mu\text{g TN}$.

3. ERGEBNISSE.

a) *Der Gesamtstickstoff in wachsenden und metamorphosierenden Schwänzen:*

Während der Wachstumsphase, welche in Abb. 2 die letzten 20 Tage vor Metamorphosebeginn umfasst, nimmt die Zuwachsrate des TN bis zu einer Schwanzlänge von 25 mm ständig zu und bleibt dann bis zum Eintritt der Metamorphose konstant. Andererseits zeigt die Metamorphosekuve -zeitlich etwa 12 Tage beanspruchend- einen beinahe linearen Abfall des TN an. Die verhältnismässig grosse Streuung der Einzelwerte deutet darauf hin, dass Schwänze von gleicher relativer Länge im TN-Wert nicht übereinstimmen müssen. Da die Larven ihre Metamorphose bei verschiedener Schwanzlänge beginnen (vgl. Abb. 3), ist dies ohne weiteres verständlich.

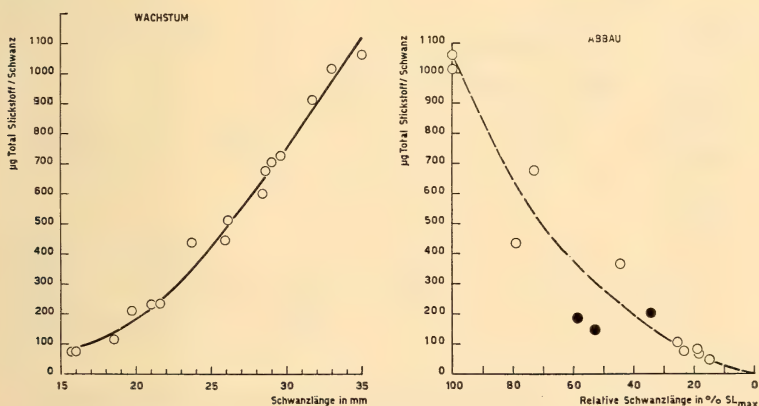


ABB. 2.

Der Gesamtstickstoff während Wachstum und Abbau des Schwanzes. ○ und ● bezeichnen Larven aus verschiedenen Gelegen; Mittelwerte aus 3 Proben vom gleichen Homogenat. Die relativen Schwanzlängen bei metamorphosierenden Larven sind bezogen auf die maximale Schwanzlänge = 100% bei Metamorphosebeginn.

Es besteht wohl kein Zweifel darüber, dass die Zunahme des Gesamtstickstoffs eine beträchtliche Produktion von Gewebeproteinen (besonders von Muskulatur) anzeigt, während dessen Abnahme in der Metamorphose als intensive Proteolyse gedeutet werden kann.

b) *Die spezifische Kathepsinaktivität:*

In Abb. 3 fällt zunächst auf, dass die spezifische Kathepsinaktivität beträchtliche Streuungen aufweist. Diese sind sicher zum Teil durch die verschiedene Schnittführung bei der Amputation verursacht, was infolge der regionalen Unterschiede der Kathepsinaktivität (BENZ 1957) ins Gewicht fällt. Nicht auszuschliessen, sind Unterschiede im physiologischen Zustand, da z. B. Hunger das Kathepsinsystem aktivieren kann (BENZ l. c.). Trotz dieser Komplikationen ergeben sich für die Wachstumsphase zwei Feststellungen: Zunächst erkennt man für die Larven von 12–29 mm Schwanzlänge eine fallende Tendenz für die spezifische Kathepsin-

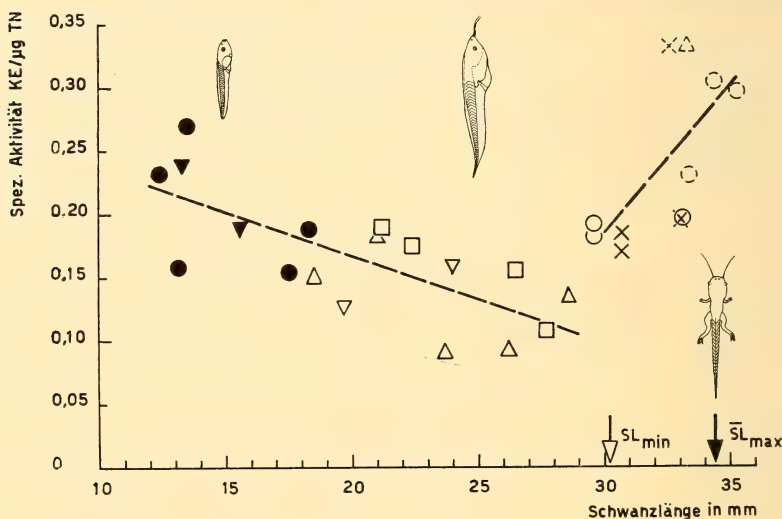


ABB. 3.

Die spezifische Kathepsinaktivität in wachsenden Schwänzen. Verschiedene Symbole bezeichnen Larven aus verschiedenen Gelegen, wobei weisse einzelne Larven und schwarze Mittelwerte von 2–3 Larven bedeuten. Gestrichelte Symbole beziehen sich auf Larven bei Metamorphosebeginn. Der schwarze Pfeil markiert die minimale Schwanzlänge ($= \overline{SL}_{min}$), der weisse Pfeil die maximale Schwanzlänge ($= \overline{SL}_{max}$), welche in einer Gesamtheit von 49 Larven bei Metamorphosebeginn gemessen wurden.

aktivität ($b = -0,006915 \text{ KE}/\mu\text{g TN}$). Weiter erfolgt bei grossen ($<29 \text{ mm SL}$), noch wachsenden Larven kurz vor Metamorphosebeginn ein Umschlag, indem die spezifische Kathepsinaktivität einen markanten Anstieg ($b = +0,02310 \text{ KE}/\mu\text{g TN}$) aufweist. Das Schwanzgewebe wird reicher an Kathepsin, wenn äusserlich noch keine Anzeichen der Metamorphose zu erkennen sind.

Vergleicht man die durchschnittliche Kathepsinaktivität/Einheit TN von mittelgrossen ($\text{SL } 15\text{--}29 \text{ mm}$) und Vormetamorphose-Larven ($\text{SL } 29 \text{ mm--SL}_{\text{max}}$), so findet man eine stark gesicherte Differenz ($t\text{-Test, } P \ll 10^{-60}$). Bei Berücksichtigung der entsprechenden TN-Werte (Abb. 2) erkennt man, dass für wachsende Schwänze während der grössten Zunahme des TN ($+60\%$) die

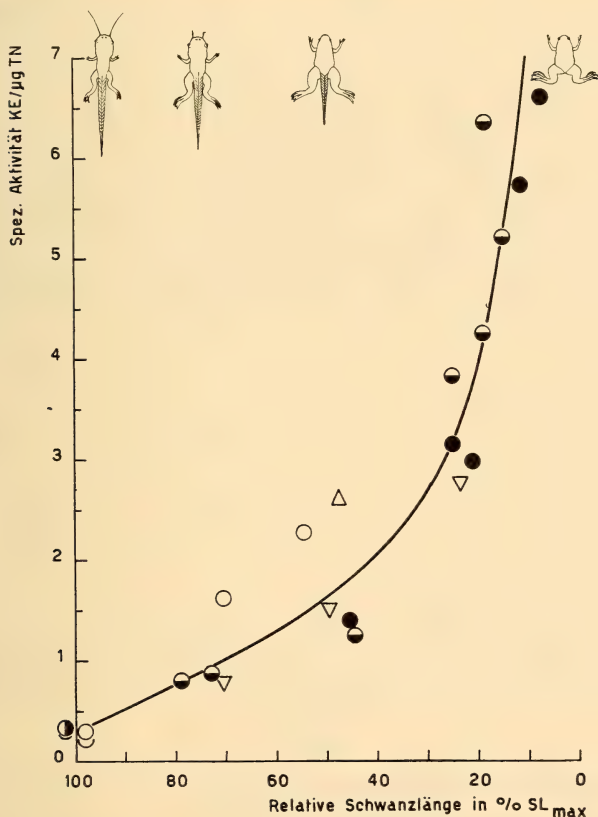


ABB. 4.

Die spezifische Kathepsinaktivität in metamorphosierenden Schwänzen. Die Symbole bedeuten einzelne Larven; sonst wie Abb. 2.

spezifische Kathepsinaktivität abfällt, und dass vor Metamorphosebeginn bei einer geringeren Zunahme des TN (+ 30%) die spezifische Kathepsinaktivität erheblich zunimmt.

Während der Schwanzresorption (Metamorphose) steigt die spezifische Kathepsinaktivität beinahe exponentiell an (Abb. 4), was auf eine beträchtliche Anreicherung von Kathepsin im regredierenden Schwanzgewebe hinweist.

c) *Der zeitlichen Verlauf der Gesamtaktivität des Kathepsins:*

Um die gesamte Veränderung im Kathepsingehalt darstellen zu können, muss auch die wechselnde Schwanzgrösse berücksichtigt werden. Abb 5 zeigt den mittleren Kathepsingehalt in wachsenden bzw. der Resorption unterliegenden Schwänzen. Wesentlich erscheint hier, dass die grösste Zunahme der Gesamtaktivität (+ 80%) nicht mit dem grössten Zuwachs an TN zusammenfällt, sondern erst gegen Ende der Wachstumsphase (SL 25 mm-SL_{max}) erfolgt, wenn der TN nur noch wenig ansteigt. Ferner zeichnet sich die Abbauphase durch ein weiteres Ansteigen der Kathepsinaktivität aus. Dabei ist zu beachten, dass das beim Eintritt der Metamorphose erreichte Aktivitätsniveau beträchtlich überschritten und bis weit in die Resorptionsphase hinein beibehalten wird.

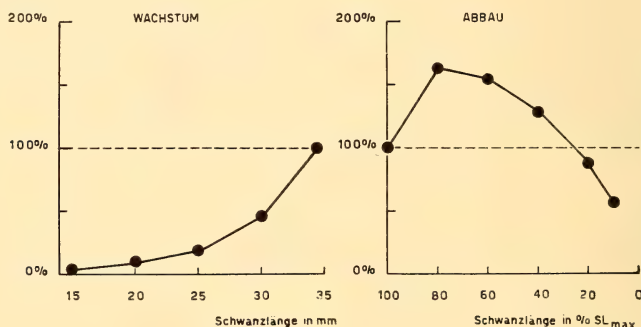


ABB. 5.

Die Gesamtaktivität des Kathepsins im Schwanz während Wachstum und Metamorphose.

Die Werte sind berechnet aus den in Abb. 2, 3 und 4 gegebenen Kurven; sie sollen den mittleren Verlauf des Gehaltes an Kathepsin im Schwanzgewebe während der larvalen Entwicklung zeigen. Die Ordinate gibt relative Werte für die Kathepsinaktivität bezogen auf Metamorphosebeginn = 100%.

Der Verlauf der Gesamtaktivität im Schwanzgewebe führt somit zum zwingenden Schluss, dass das *Kathepsinsystem funktionell mit der Proteolyse korreliert ist*.

4. SCHLUSSBETRACHTUNG.

Wenn man dem Kathepsinsystem eine proteolytische Funktion zuweist, so ergibt sich meines Erachtens kein Widerspruch zu den bereits angeführten Befunden von LÖVTRUP (l. c.) oder URBANI (l. c.); denn bei ihren Versuchen an holoblastischen Amphibienkeimen spielt vermutlich die Umwandlung von Dotterproteinen in aktive Plasmaproteine eine erhebliche Rolle. In diesem Falle müssen sich Synthese und Abbau überlagern, was für die physiologische Deutung der Kathepsinaktivität gewisse Schwierigkeiten bereitet. Nach neuesten Befunden von E. M. DEUCHAR (unpubl.) ist die Kathepsinaktivität in *Xenopus*keimen (Gastrula bis Schwanzknospenstadium) regional verschieden; sie überwiegt in den ventralen Hälften, die im Vergleich zu den dorsalen bedeutend dotterreichere Zellen enthalten. Eine entsprechende Beobachtung liegt vor für den Hühnchenkeim, wo am 8. Bruttage im Embryogewebe nur 1/12 der im extraembryonalen Entoderm (Dotterresorption!) vorhandenen Proteinaseaktivität gemessen wurde (BORGER und PETERS 1933).

Wie erklärt sich auf Grund dieser Vorstellungen die hohe spezifische Kathepsinaktivität in Schwänzen von jungen bzw. Vormetamorphoselarven? Bekanntlich werden die Proteine in stark wachsenden Geweben (embryonale oder auch Regenerationsblasteme) bedeutend rascher umgesetzt als in ausdifferenzierten Geweben (POLLISTER 1954). Eine erhöhte proteolytische Aktivität in jungen Schwänzen wäre somit zu erwarten. Die Abnahme der spezifischen Kathepsinaktivität während des Wachstums könnte dadurch erklärt werden, dass sich das Verhältnis zwischen „inerten Proteinen“ (z. B. Muskulatur) zur aktiven Wachstumszone mit hoher Kathepsinaktivität zu Gunsten der ersten verschiebt; dafür spricht auch die von BENZ (l. c.) nachgewiesene differentielle Verteilung der Kathepsinaktivität im *Xenopusschwanz*.

Die Zunahme der Kathepsinaktivität in Vormetamorphosestadien, bei denen histologisch noch keine sichtbaren Anzeichen

des Gewebeabbaus festzustellen sind, könnte auf eine physiologische Umstimmung im Schwanzgewebe hindeuten. Man kann sich fragen, ob diese Erscheinung verknüpft sei mit der Etablierung der „Kompetenz“ (NEEDHAM 1950), womit das Schwanzgewebe die Reaktionsbereitschaft gegenüber Metamorphosereizen erreicht. Dieses Problem bedarf weiterer Abklärung.

Die enge Korrelation zwischen Kathepsinaktivität und Proteolyse kommt morphologisch an Metamorphoseschwänzen überzeugend zum Ausdruck. In Schnitten beobachtet man, dass das im Abbau begriffene Gewebe, insbesondere die Muskulatur, zunehmend von Blutkapillaren besiedelt wird (Abb. 6). Schliesslich bleiben als aktives Zellmaterial vorwiegend noch die Blutkörperchen in den stark erweiterten Gefässen. Man könnte daher vermuten, dass kathepsinreiche Leukocyten (NEEDHAM l. c.) wesentlich zur erhöhten Kathepsinaktivität beitragen.

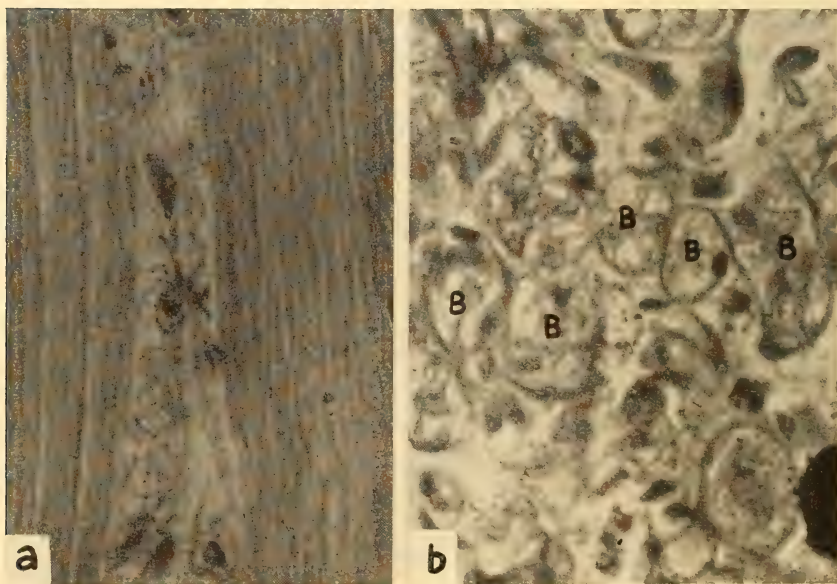


ABB. 6.

Der histologische Zustand des Schwanzgewebes.

- a) bei Metamorphosebeginn überwiegt die zentrale Muskulatur, mit starker Entwicklung von plasmatischen Strukturen.
- b) Endphase der Metamorphose die im Abbau begriffene Muskulatur ist von vielen Blutkapillaren (B) durchsetzt.

Vergrösserung etwa 580:1.

Endlich bedarf es noch eines Hinweises, dass allen diesen Überlegungen die maximal mögliche (= potentielle) Kathepsinaktivität zugrunde liegt, da eben nur diese bestimmt werden kann. In der Zelle können hemmende und aktivierende Stoffe (z. B. Aminosäuren) die (aktuelle) Aktivität des Kathepsins beeinflussen. Orientierende Versuche mittels Papierchromatographie machen eine starke Vermehrung von freien Aminosäuren (Glycin, Serin, α -Alanin, Glutamin, Tryptophan, Valin und Leucin) wahrscheinlich. Ihre Wirkung auf das Kathepsinsystem ist noch unbekannt. Die Befunde zeigen aber, dass sich die im Abbau begriffenen Schwänze biochemisch auch in dieser Hinsicht von wachsenden deutlich unterscheiden.

Diese Versuche am Kathepsin führen zur generellen Vermutung, dass die biochemische Untersuchung von larvalen Entwicklungsgängen, bei welchen Auf- und Abbau am gleichen Organ so klar zu Tage treten, eine wertvolle Informationsquelle darstellen, um biochemische Vorgänge mit der Morphogenese in Beziehung zu bringen.

SUMMARY.

The functional significance of the catheptic system in tail tissue of *Xenopus* larvae has been studied. Catheptic activity and total nitrogen were determined in homogenates of larval tails at different stages of growth and resorption.

During tail growth, at the time of greatest increase in total nitrogen the specific activity of cathepsin (expressed per unit total nitrogen) shows a falling trend. Shortly before the onset of metamorphosis, when the tail is still growing and as yet no signs of tissue resorption are detectable, the specific activity begins to increase, attaining a significantly higher level.

During metamorphosis a further, almost exponential increase in specific activity is observed, concomitantly with progressive tail resorption (i.e. loss of total nitrogen).

The total activity, calculated per tail, is highest from the beginning of metamorphosis until about 2/3 of the tail are resorbed. Hence it is concluded that the catheptic system has a predominantly proteolytic function.

The high level of specific activity in pre-metamorphosis larvae could reflect a physiological change and might have some relation

to the onset of "competence" in the tail tissue—i.e. its reactivity to metamorphosis stimuli.

LITERATUR

- BENZ, G. 1957. *Regionale Verteilung der Kathepsinaktivität im Schwanz von gefütterten und hungernden Xenopuslarven*. Rev. suisse Zool. 64: 337-349.
- BOELL, E. J. and S. C. SHEN. 1954. *An improved ultramicro-Kjeldahl technique*. Exper. Cell. Res. 7: 147-152.
- BORGER, G. und T. PETERS. 1933. *Chemisch-biologische Untersuchungen über wachstumsfördernde Stoffe. 1. Die Enzyme des Extraktes aus Hühnerembryonen*. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 214: 91-103.
- DEUCHAR, E. M., R. WEBER and F. E. LEHMANN. 1957. *Differential changes of catheptic activity in regenerating tails of Xenopus larvae, related to protein breakdown and total nitrogen*. Helv. Physiol. Acta 15 (im Druck).
- DUSPIVA, F. 1939. *Beiträge zur Histophysiologie des Insektendarmes. 1. Untersuchungen über die Verteilung der proteolytischen Fermente sowie der Sekret- und Resorptionszellen im Darm von Dytiscus marginalis*. Protoplasma 32: 311-250.
- GASCHE, P. 1944. *Beginn und Verlauf der Metamorphose bei Xenopus laevis Daud. Festlegung der Umwandlungsstadien*. Helv. Physiol. Acta 2: 607-626.
- HAUROWITZ, F. 1950. *Chemistry and Biology of Proteins*. New York, Acad. Press Inc.
- JENSEN, P., F. E. LEHMANN and R. WEBER. 1956. *Catheptic activity in the regenerating tail of Xenopus larvae and its reaction to histostatic substances*. Helv. Physiol. Acta 14: 188-201.
- LØVTRUP, S. 1955. *Chemical differentiation during amphibian development*. C. r. Lab. Carlsberg, sér. chim. 29: 261-314.
- MAVER, M. E., A. E. GRECO, E. LØVTRUP and A. J. DALTON. 1952. *Catheptic activity of the nuclei of normal, regenerating, and neoplastic tissues of the rat*. J. Nat. Canc. Inst. 13: 687-703.
- NEEDHAM, J. 1950. *Biochemistry and Morphogenesis*. Cambridge University Press.
- POLLISTER, A. W. 1954. *Cytochemical aspects of protein synthesis, in "Dynamics of Growth Processes"*. E. J. Boell, ed. Princeton University Press Princeton (N.J.).
- URBANI, E. 1955. *Gli enzimi proteolitici nella cellula e nell'embrione*. Experientia 11: 209-218.
- WEBER, R. 1957a. *On the biological function of cathepsin in tail tissue of Xenopus larvae*. Experientia 13: 153-155.

Nº 22. **Georg Benz**, Bern. — Regionale Verteilung der Kathepsinaktivität im Schwanz von gefütterten und hungernden *Xenopus*-Larven ¹.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Bern.)

I. EINLEITUNG.

Die Untersuchungen von JENSEN, LEHMANN und WEBER (1956) und DEUCHAR, WEBER und LEHMANN (1957) haben gezeigt, dass die Aktivität der intrazellulären Proteinasen oder Kathepsine im regenerierenden Schwanz der *Xenopus*larve stark ansteigt. Die gleichen Autoren fanden auch in den nicht amputierten Kontrollschwänzen eine schwach erhöhte Kathepsinaktivität. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, eine Erklärung für diesen Anstieg der Proteinaseaktivität im Kontrolltier zu finden.

Die oben erwähnten Autoren hielten die Tiere während der ganzen Versuchsdauer ohne Futter bei 18° C in destilliertem Wasser. Bis zum Versuchsbeginn sind die Tiere bei ca. 21° C gezüchtet worden. Der Temperaturwechsel konnte für den Anstieg der Kathepsinaktivität nicht verantwortlich gemacht werden, da eigene Vorversuche gezeigt haben, dass das Herabsetzen der Temperatur um 3° keinen Einfluss auf die Kathepsinaktivität oder höchstens eine sehr geringe Abschwächung derselben bewirkt.

Es wurde daher die Arbeitshypothese aufgestellt, dass der Nahrungsmangel die erhöhte Kathepsinaktivität der Kontrolltiere bewirke. JENSEN et al. und DEUCHAR et al. haben für ihre Untersuchungen 2 mm lange Schwanzstückchen verwendet, die sie vom 8.—10. mm vor der Schwanzspitze herausgeschnitten hatten. In unseren ersten Versuchen haben wir darum ebenfalls Schwanzstücke von 2 mm Länge untersucht. Da zugleich die Regenerationsfähigkeit der Hungertiere getestet werden sollte, wurden die Stücke

¹ Ausgeführt mit Unterstützung des Schweiz. Nationalfonds. Herrn Prof. F. E. LEHMANN danke ich für wertvolle Ratschläge und reges Interesse an dieser Arbeit.

allerdings vom 6.—8. mm vor der Schwanzspitze herausgeschnitten. Später sind die Versuche erweitert worden; es wurden auch ganze Schwänze untersucht, und zur Abklärung der Frage, ob die von den obigen Autoren verwendete Schwanzregion ein gutes Bild über den physiologischen Zustand des Schwanzes geben, wurde die Kathepsinaktivität in den verschiedenen Schwanzregionen bestimmt. Ferner wurde erwartet, dass die Versuche etwas mehr Aufschluss über die Funktion des Kathepsins im lebenden Gewebe ergeben.

II. MATERIAL UND METHODEN.

1. *Zucht und Auswahl der Tiere.*

Xenopuslarven von 26—29 mm Länge, die unter Standardbedingungen gezüchtet worden sind (LEHMANN und BRETSCHER, 1952, DETTELBACH, 1954), wurden zu je 5 in Glasbecher mit ca. 200 ml glasdestilliertem Wasser gegeben und pro Glas eine der Grösse der Tiere angemessene Menge Brennesselfutter (75 g Brennesselpulver pro Liter Wasser) zugesetzt. Die für eine Versuchsserie verwendeten Tiere stammten immer von der gleichen Ablage. Es wurde darauf geachtet, dass die Larven in jedem Glas die gleiche durchschnittliche Länge hatten und dass die einzelnen Tiere nicht mehr als 1 mm von diesem Mittelwert abweichen. Die Gläser wurden im 18°-Thermostaten aufbewahrt. Jeden Tag wurde neues Futter zugegeben und jeden zweiten Tag erhielten die Tiere frisches Wasser. Gewöhnlich sind die Tiere 4 Tage lang im 18°-Thermostaten gefüttert worden, bevor mit dem eigentlichen Versuch begonnen wurde (Standard-Konditionierung). Am Tag des eigentlichen Versuchsbeginns (Tag 0 der Hungerversuche) wurde die Hälfte der Tiere in neue Gläser mit frischem glasdestilliertem Wasser umgesetzt, während die übrigen Tieren weiterhin täglich Futter erhielten.

2. *Herstellung der Schwanzhomogenate.*

Schwanzstücke bestimmter Grösse, oder ganze Schwänze, meist von 10 Tieren, wurden in einem konisch geschliffenen Mikrohomogenisator mit wenig Wasser homogenisiert und das Homogenat mit einer bestimmten Menge Wasser verdünnt.

3. Bestimmung des Stickstoffs und der Kathepsinaktivität.

Von den Homogenaten wurden mit einer Carlsberg-Konstruktionspipette (11,7 μ l) Stichproben genommen und zwar gewöhnlich 3 Stichproben für die Stickstoffbestimmung und 5 Stichproben für die Kathepsinbestimmung. Die Homogenate bestimmter Schwanzabschnitte wurden so verdünnt, dass eine Stichprobe ungefähr einer Schwanzschnitte entsprach. Der Stickstoffgehalt wurde nach der Ultramikrokjeldahl-Methode von BOELL and SHEN (1954) bestimmt. Zur Bestimmung der Kathepsinaktivität wurde die nach DUSPIVA (1939) modifizierte, kolorimetrische Methode von ANSON (1937) mit Casein als Substrat, verwendet. (vgl. DEUCHAR et al. 1957). Bei dieser Methode wurde pro Ansatz eine Homogenatstichprobe mit 50 μ l 2%iger Casein-Harnstoff-Lösung + 50 μ l Duspiva-Puffer (pH 4,8—5) gut vermischt und 18 h bei 40° C inkubiert. Das unverdaute Casein wurde hierauf mit 1 ml 5%iger Trichlor-Essigsäure gefällt und abzentrifugiert. Vom Überstehenden wurde 1 ml abpipettiert, mit 1 ml Reagens nach FOLIN und COCALTIEU und 1 ml 13,5%iger Na_2CO_3 -Lösung versetzt und gut gemischt. Nach 1 h wurde die entstandene Blaufärbung mit dem Beckman-Spektrophotometer (Modell B) bei einer Wellenlänge von 780 m μ gemessen. Die Ansätze für die Blindwerte sind gleich behandelt worden, nur ist bei diesen anstatt der Homogenatstichprobe ein entsprechendes Volumen Wasser zugesetzt worden. Zur Umrechnung der Extinktionswerte in Kathepsin-Einheiten (KE) wurde die von WEBER (1957b) publizierte Kathepsinumsatz-Kurve verwendet.

III. EXPERIMENTE UND RESULTATE.

Vorversuche.

1. Versuch: Von je 10 gefütterten resp. gehungerten *Xenopus*larven wurden nach 0, 5, 8, 11, 15, 18 und 21 Tagen das Schwanzstück vom 6.—8. mm vor der Schwanzspitze herausgeschnitten und homogenisiert. Im Homogenat wurden die Kathepsinaktivität und der Stickstoffgehalt pro Stichprobe (entsprechend einer Schwanzschnitte) bestimmt. Durch Umrechnung der gemessenen Kathepsinaktivität in Kathepsin-Einheiten (KE) und Division der KE durch die Stickstoffmenge (μ g/Stichprobe) wurde die spezifische Kathepsinaktivität errechnet ($\text{SKA} = \text{KE pro } \mu\text{g Stickstoff}$).

Die gefütterten Tiere erhielten täglich vom 0.—8. Tag = 0,25 ml, vom 9.—15. Tag = 0,5 ml und vom 16.—21. Tag = 1 ml Brennesselfutter pro Glas. Abb. 1 zeigt die Resultate dieses Versuchs. Es zeigt sich, dass die SKA in den Hungertieren höher ist als in den gefütterten Tieren, dass sie aber offenbar sehr stark oscilliert (vgl. dazu Abb. 6, Zwischenstück). Die gefütterten Tiere haben etwas zu wenig Futter erhalten; ihre SKA steigt dementsprechend ebenfalls etwas an.

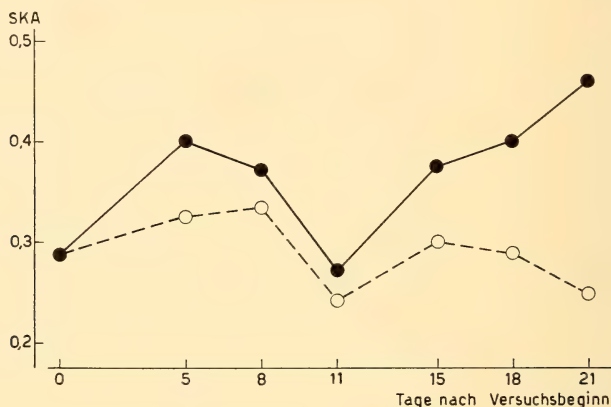


ABB. 1.

Spezifische Kathepsinaktivität in einem 2 mm langen Schwanzstück (6.—8. mm vor der Schwanzspitze) der *Xenopus*larve. ●—● = gehungerte Tiere, ○—○ = gefütterte Tiere.

2. Versuch: Von je 5 gehungerten Tieren wurde 0, 5, 8, 11, 18, und 21 Tage nach Versuchsbeginn der ganze Schwanz (18 mm) abgeschnitten und die SKA im Homogenat dieser Schwänze bestimmt. Die Resultate sind in Abb. 3 (Kurve H2) eingetragen. Der Versuch zeigt, dass im Verlauf der Hungerszeit eine Zunahme der SKA im Schwanz erfolgt, wobei auch hier, allerdings viel schwächer als im 1. Versuch, Oscillationen auftreten.

3. Versuch: Schwänze von unbehandelten *Xenopus*larven wurden in einzelne Abschnitte aufgeteilt, in die Schwanzspitze (0.—6. mm) und weiter bis zur Basis in lauter 2 mm lange Schnitten. In den Homogenaten sind die Kathepsinaktivität und der Stickstoff bestimmt worden. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 wiedergegeben. Von gleichen Tieren sind Schwanzquerschnitte hergestellt

worden. Unten in Abb. 2 ist für jede Region des Schwanzes der zugehörige Querschnitt eingezeichnet worden. Aus der Abbildung ist ersichtlich, dass in der Schwanzspitze mehr Kathepsin pro Stickstoff-Einheit vorhanden ist als in der Schwanzbasis und dass zwischen diesen beiden Punkten ein ziemlich gleichmässiges Gefälle der SKA festgestellt werden kann.

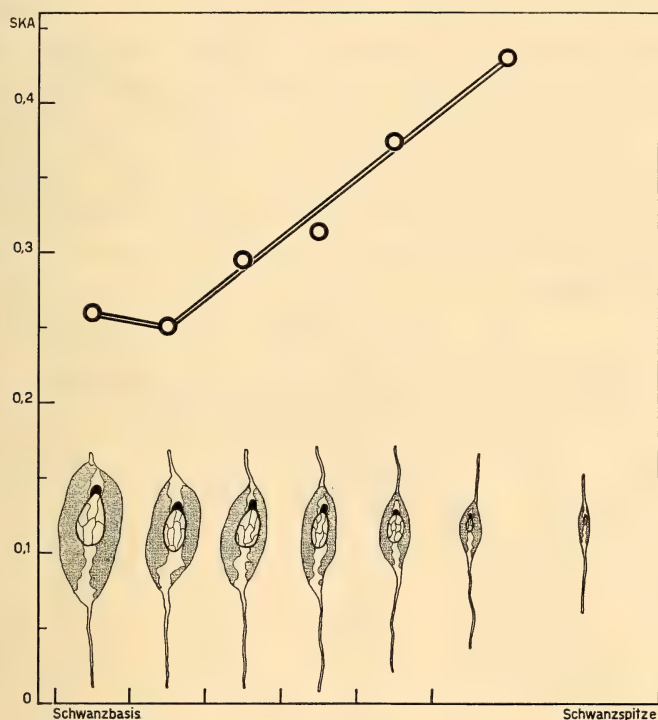


ABB. 2.

Spezifische Kathepsinaktivität in verschiedenen Regionen des Schwanzes von *Xenopus*larven. Unten sind Querschnitte aus den verschiedenen Schwanzregionen eingezeichnet.

4. Versuch: Um das Wachstum, resp. den Stickstoffzuwachs (nach DEUCHAR et al. ist der Stickstoffgehalt direkt proportional dem Trockengewicht) in den verschiedenen Schwanzregionen zu bestimmen, sind die Schwänze von 20 Larven mit Carmin 6, 8, 10, 12, 14 und 16 mm vor der Schwanzspitze markiert worden. Die Carminkörner wurden mit Hilfe einer in einen Glasstab

eingeschmolzenen Minutien-Nadel den narkotisierten Tieren eingestochen.

Die Hälfte der Tiere wurden sofort getötet, die Schwänze an den markierten Stellen entzwei geschnitten und von je 10 gleichen Abschnitten sind Homogenate gemacht und deren Stickstoff bestimmt worden. Die restlichen Tiere wurden während 20 Tagen gefüttert und dann deren Schwänze ebenfalls an den markierten Stellen entzwei geschnitten. Wiederum sind von den einzelnen Schwanzabschnitten Homogenate gemacht und deren Stickstoffgehalt bestimmt worden. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 eingetragen. Wird die Stickstoffmenge der einzelnen Schwanzabschnitte bei den frisch markierten Tieren als 100 angenommen, so ergibt die Stickstoffmenge der entsprechenden Abschnitte von gefütterten Tieren die Stickstoffzunahme in 20 Tagen oder deren Wachstum. Tab. 1 zeigt, dass der Schwanz an der Basis relativ rascher wächst als an der Spitze.

TABELLE 1.

*Stickstoffgehalt der verschiedenen Schwanzabschnitte
und deren Zuwachs in 20 Tagen.*

Schwanzabschnitt	N-Gehalt bei Versuchsbeginn in μg	N-Gehalt nach 20 Tagen in μg	N-Zuwachs	
			in μg	in %
Spitze = 0.—6. mm	4,67	12,45	7,78	166
6.—8. mm	5,33	13,48	8,14	152
8.—10. mm	9,21	24,41	13,20	164
10.—12. mm	15,58	48,60	33,01	211
basal = 12.—14. mm	36,01	118,39	82,37	228

5. H a u p t v e r s u c h : Am Tag 0 (Versuchsbeginn), sowie nach 4, 8, 12, 16 und 20 Tagen wurde von je 10 gefütterten resp. gehungerten Tieren der Schwanz amputiert und in die folgenden 4 Abschnitte (vgl. Skizzen in Abb. 7 unten) aufgeteilt: Schwanzspitze (0.—6. mm), Zwischenstück (6.—8. mm), Mittelstück (8.—16. mm) und Schwanzbasis (16. mm—After). Die 10 sich entsprechenden Abschnitte wurden jeweils zu einem Homogenat verarbeitet und von den Homogenaten der Stickstoff und die Kathepsinaktivität bestimmt. Die Resultate sind in den Abbildungen 3—7 und in Tabelle 2 dargestellt.

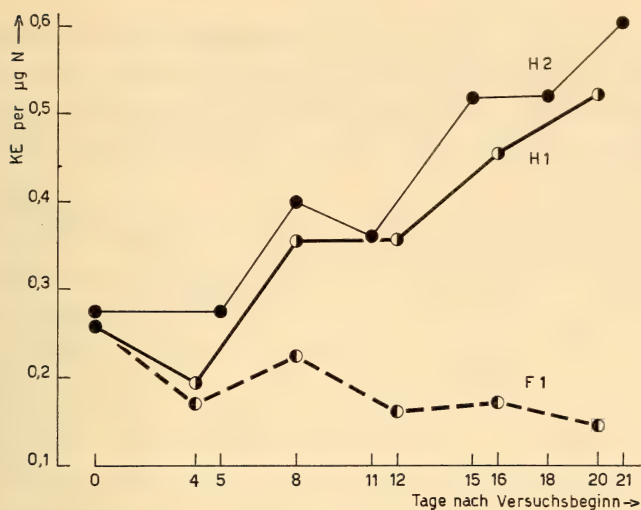


ABB. 3.

Spezifische Kathepsinaktivität ganzer Schwänze von *Xenopus*larven. H 1 und H 2 = Hungertiere. F 1 = gefütterte Tiere.

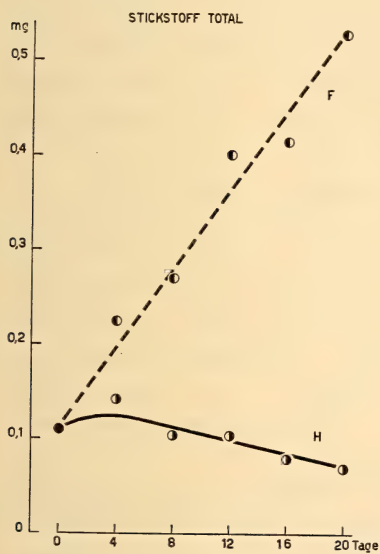


ABB. 4.

Abb. 4. Stickstoffmenge in Schwänzen von gefütterten (F) und gehungerten (H) *Xenopus*larven.

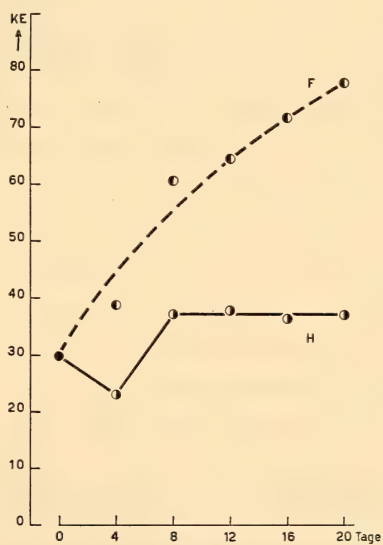


ABB. 5.

Abb. 5. Kathepsinmenge in Kathepsineinheiten (KE) in Schwänzen von gefütterten (F) und gehungerten (H) *Xenopus*larven.

Wie die Abb. 3 zeigt, sinkt die SKA des Schwanzes während der ersten 4 Hungertage, steigt dann aber während der weiteren Hungerzeit stark an. Bei den gefütterten Tieren ist während des Wachstums ein schwaches Absinken der SKA festzustellen (vgl. WEBER 1957a, b).

Aus Abb. 4 ist ersichtlich, dass der Gesamtstickstoff in den gefütterten Tieren ziemlich linear zunimmt, während er in den Hungertieren schwach abnimmt. Abb. 5 zeigt, dass während des Wachstums der gefütterten Tiere die Kathepsinmenge (ausgedrückt in KE) der Stickstoffmenge entsprechend zunimmt. Ganz anders liegt der Fall bei den Hungertieren. Nach einem anfänglichen Absinken der Kathepsinmenge steigt sie am 8. Hungertag auf einen Wert der etwa 20% höher liegt als der Ausgangswert und bleibt dann konstant. Die fortwährende Zunahme der SKA in den Hungertieren beruht also vom 8. Tag an nicht auf einer Zunahme der absoluten Kathepsinmenge, sondern auf dem Absinken des Stickstoffgehaltes.

Betrachten wir die Werte der einzelnen Schwanzregionen (Abb. 6), so erhellt, dass die hohe SKA des ganzen Schwanzes nach 20 Tagen Hunger vor allem auf die starke Zunahme der SKA in der vorderen Schwanzhälfte zurückzuführen ist. Die Spitze und die anschliessenden 2 mm des Schwanzes weisen im Gegensatz dazu eine sehr starke Oscillation der SKA-Werte auf (vgl. Abb. 1), die auch im grossen Mittelstück noch schwach angedeutet ist.

Wie Abb. 7 zeigt, ist in gefütterten Tieren der starke Gradient der SKA von der Schwanzbasis zur Spitze sehr gut reproduzierbar. Während der ganzen Versuchsdauer sind keine wesentlichen Änderungen in der SKA der verschiedenen Schwanzregionen zu verzeichnen. Ganz anders verhält sich die SKA in Hungerschwänzen. Nach einer Hungerperiode von 8 Tagen ist die SKA im ganzen Schwanz ziemlich stark angestiegen. Nach 12 Hungertagen finden wir in der Schwanzspitze eine stark verminderte SKA, während diese im Basisstück weiterhin ansteigt. Wir finden deshalb am 12. Tag in allen Schwanzregionen eine ungefähr gleich hohe Kathepsinaktivität pro Stickstoffeinheit. Bis zum 20. Hungertag entsteht wieder ein SKA-Gradient, der nun allerdings ein umgekehrtes Gefälle aufweist als derjenige der gefütterten Tiere. Diesen Gradientenverschiebungen entsprechend ist auch der Eiweissabbau in den Schwanzregionen verschieden. Als Mass für den Eiweissabbau

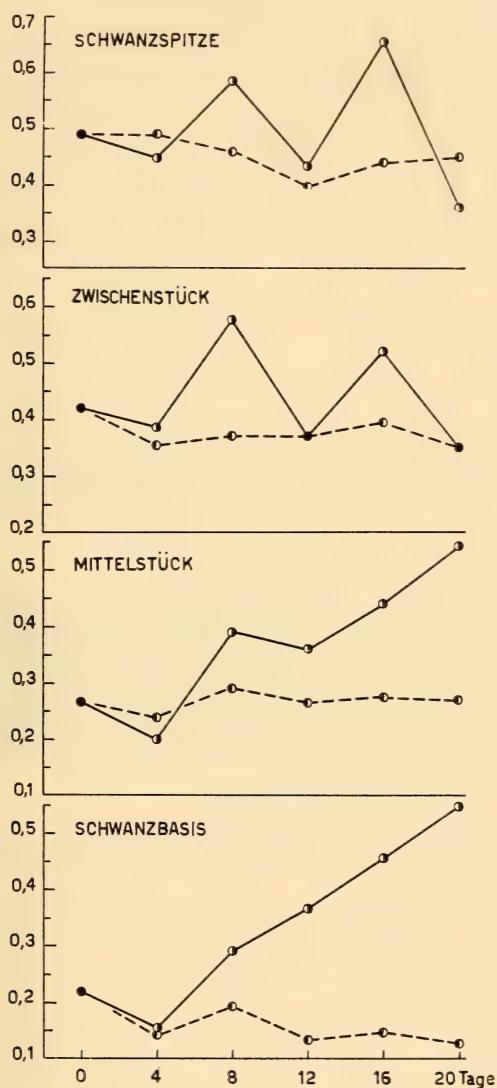


ABB. 6.

Spezifische Kathepsinaktivität (Ordinate) in verschiedenen Schwanzregionen von *Xenopus*larven. — Hungertiere, — — — gefütterte Tiere.

kann der Stickstoffverlust im Schwanzgewebe betrachtet werden. Tab. 2 gibt Auskunft über das Ausmass dieser histolytischen Vorgänge. Es zeigt sich, dass in der Schwanzspitze vor allem in den ersten 8 Hungertagen Eiweiss abgebaut wird und dass diese Prozesse im Basisgewebe erst später einsetzen.

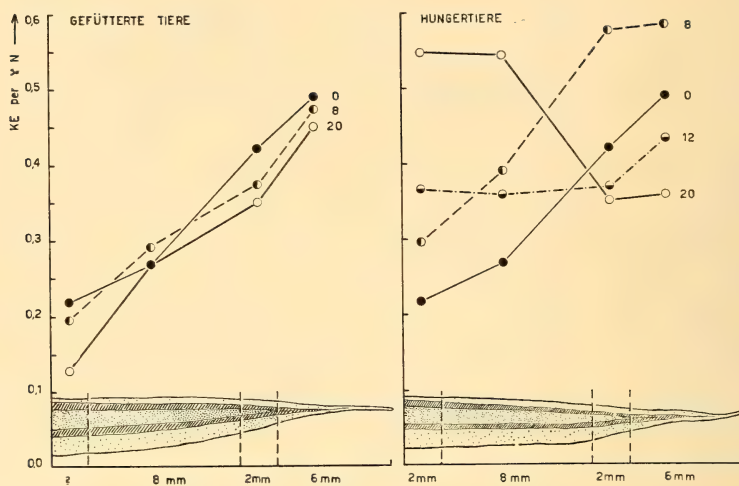


ABB. 7.

Spezifische Kathepsinaktivität (Ordinate) in verschiedenen Regionen des Schwanzes von gefütterten und gehungerten *Xenopus*larven. Unten ist ein Operationsschema eingezeichnet aus dem die Grösse der zur Untersuchung gewonnenen Schwanzstücke abgelesen werden kann. Das Fragezeichen beim Basisstück der gefütterten Tiere bedeutet, dass die Grösse dieses Stückes variiert und zwar nimmt es im Verlauf des Versuches zu. Die Zahlen bei den einzelnen Kurven bedeuten Tage nach Versuchsbeginn.

TABELLE 2.

Stickstoffgehalt der verschiedenen Schwanzregionen in μg nach 0, 8 und 20 Hungertagen.

Schwanzregion	N-Gehalt am Tag 0	N-Gehalt am Tag 8	N-Gehalt am Tag 20	Abnahme in d. ersten 8 Tg.	Spätere Abnahme
Spitze . . .	3,48	2,05	1,97	35%	3%
Zwischenstück	3,20	2,45	2,32	24%	3%
Mittelstück .	60,87	48,96	38,22	20%	17%
Basis	48,01	48,76	27,83	0%	42%

IV. DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG.

Die Kathepsinbestimmungen an Schwänzen von *Xenopus*larven ergeben folgende Resultate:

1. Die spezifische Kathepsinaktivität (S. 339) ist in den verschiedenen Schwanzregionen verschieden hoch. Von der Basis,

mit relativ niedriger SKA, verläuft ein ziemlich rasch zunehmender SKA-Gradient zur Spitze (Abb. 2 + 7). An den Querschnitten aus den verschiedenen Schwanzregionen (Abb. 2) ist ersichtlich, dass der Schwanz an der Basis aus relativ wenig Epidermis, an der Spitze aber fast nur aus Epidermis besteht. Die Epidermis enthält, verglichen mit der Muskulatur und dem Stützgewebe, relativ viele Kerne. Es ist denkbar, dass die Kathepsinaktivität mit dem Kernreichtum in direktem Zusammenhang steht.

2. Werden die Tiere gehungert, so steigt die SKA in den Schwänzen an. Dieser Anstieg beruht nicht in erster Linie auf einer Zunahme des Kathepsins (Abb. 5), sondern auf dem Stickstoffverlust (Abb. 4). Vom 8. Hungertag an bleibt die absolute Kathepsinaktivität konstant. Der Anstieg der SKA erfolgt während der Hungerzeit (ausgenommen sind die ersten 4 Tage) relativ konstant in der Basishälfte des Schwanzes. Im Gegensatz dazu zeigt die SKA in der Schwanzspitze regelmässige Oszillationen. Da die Schwanzspitze einer lebenden *Xenopus*larve in dauernder Bewegung ist, dürfte der Stoffwechsel in dieser Region entsprechend intensiver sein. Die Oszillationen der SKA könnten auf einem spezifischen Spitzenstoffwechsel beruhen. In gefütterten Tieren zeigt die SKA nur geringe Schwankungen. Im Verlaufe des Wachstums sinkt die SKA etwas (vgl. WEBER 1957 a, b).

3. Die relative Stickstoffzunahme, d. h. das Wachstum, ist an der Basis relativ gross und an der Spitze relativ gering (Tab. 1). Umgekehrt weist die Spitze während den ersten 8 Hungertagen einen stärkeren Stickstoffverlust auf als die Basis. Später, wenn die Basis eine hohe SKA erreicht hat (Abb. 7), ist der Stickstoffverlust vor allem im Basisbereich gross (Tab. 2). Wir finden also in der Region hoher SKA relativ geringes Wachstum bei gefütterten Tieren und relativ grossen Stickstoffverlust bei Hungertieren. Dies spricht dafür, dass das von uns bestimmte Kathepsin in *Xenopus*larven vor allem am Abbau der Proteine beteiligt ist. Für die von LØVTRUP (1955) und URBANI (1955) vertretene Ansicht, wonach Kathepsin in Amphibien auch synthetische Funktionen habe, bieten unsere Versuche keine Anhaltspunkte. Diese Feststellung stimmt mit den Ergebnissen von WEBER (1957 b) über die Kathepsinaktivität im Schwanz der Metamorphosestadien von *Xenopus* überein. Das oben gesagte gilt aber nicht für alle Kathep-

sine. So haben Untersuchungen von SCHULTZ (1949) und FRUTON et al. (1953) gezeigt, dass Kathepsin II, resp. eine Komponente davon, Kathepsin C im Organismus eventuell synthetische Funktionen hat.

SUMMARY.

In homogenates from whole tails or slices of the tail from fed and starved larvae of *Xenopus* the quantity of nitrogen (method of BOELL and SHEN, 1954) and the catheptic activity (colorimetric method of ANSON, 1937, modified by DUSPIVA, 1939) have been determined. The following results were obtained:

1. The specific catheptic activity (SCA), i. e. catheptic activity per unit nitrogen, is highest in the tip and lowest in the base of the tail.
2. The SCA in tails of starved animals is higher than that in fed animals. It rises during the period of starvation.
3. The increase of SCA is rather steady in the anterior part of the tail, whereas the tip shows strong oscillations.
4. There is no great increase of cathepsin in starved animals. The higher SCA is the result of loss of nitrogen, whereas the amount of cathepsin remains constant.
5. In fed animals the increase of nitrogen and cathepsin runs nearly parallel.
6. The relative increase of nitrogen in fed animals is small in the tip of the tail and high in the base. In contrast to this the loss of nitrogen in starved animals is great in tail regions with high SCA and vice versa.
7. These facts lead to the conclusion, that in vivo the described cathepsin of the larval tail of *Xenopus* is very probably involved in proteolysis but not in synthesis.

LITERATUR

- ANSON, M. L. 1937. *The estimation of cathepsin with hemoglobin and partial purification of cathepsin*. J. gen. Physiol. 20: 565.
- BOELL, E. J. and S. C. SHEN. 1954. *An improved ultramicro-Kjeldahl technique*. Exp. Cell. Res. 7: 147.

- DETTELBACH, H. R. 1952. *Histostatic and cytostatic effects of some amino ketones upon tail regeneration in Xenopus larvae*. Rev. suisse Zool. 59: 339.
- DEUCHAR, E. M., R. WEBER and F. E. LEHMANN, 1957. *Differential changes of catheptic activity in regenerating tails of Xenopus larvae, related to protein breakdown and total nitrogen*. Helv. Physiol. Acta 15: (im Druck).
- DUSPIVA, F. 1939. *Beiträge zur Histophysiologie des Insektendarmes. I. Untersuchungen über die Verteilung der proteolytischen Enzyme sowie der Sekret- und Resorptionszellen im Darm von Dytiscus marginalis*. Protoplasma 32: 211.
- JENSEN, P. K., F. E. LEHMANN and R. WEBER, 1956. *Catheptic activity in the regenerating tail of Xenopus larvae and its reaction to histostatic substances*. Helv. Physiol. Acta 14: 188.
- LEHMANN, F. E. und A. BRETSCHER. 1952. *Wirkungsanalyse regenerationshemmender Stoffe mit Hilfe statistischer Methoden*. Helv. Physiol. Acta 10: 20.
- LØVTRUP, S. 1955. *Chemical differentiation during amphibian embryogenesis*. C. R. Lab. Carlsberg, Sér. Chim. 29: 261.
- URBANI, E. 1955. *Gli enzimi proteolitici nella cellula e nell'embrione*. Exper. 11: 209.
- WEBER, R. 1957a. *On the biological function of cathepsin in tail tissue of Xenopus larvae*. Exper. 13: 153.
- 1957b. *Die Kathepsinaktivität im Schwanz der Xenopuslarve während Wachstum und Metamorphose*. Rev. suisse Zool. 64: 326.
-

N° 23. **H.-A. Guénin**, Lausanne. — Contribution à la connaissance cytologique des Scorpions: les chromosomes de *Pandinus imperator* Koch. (Avec 9 figures dans le texte.)

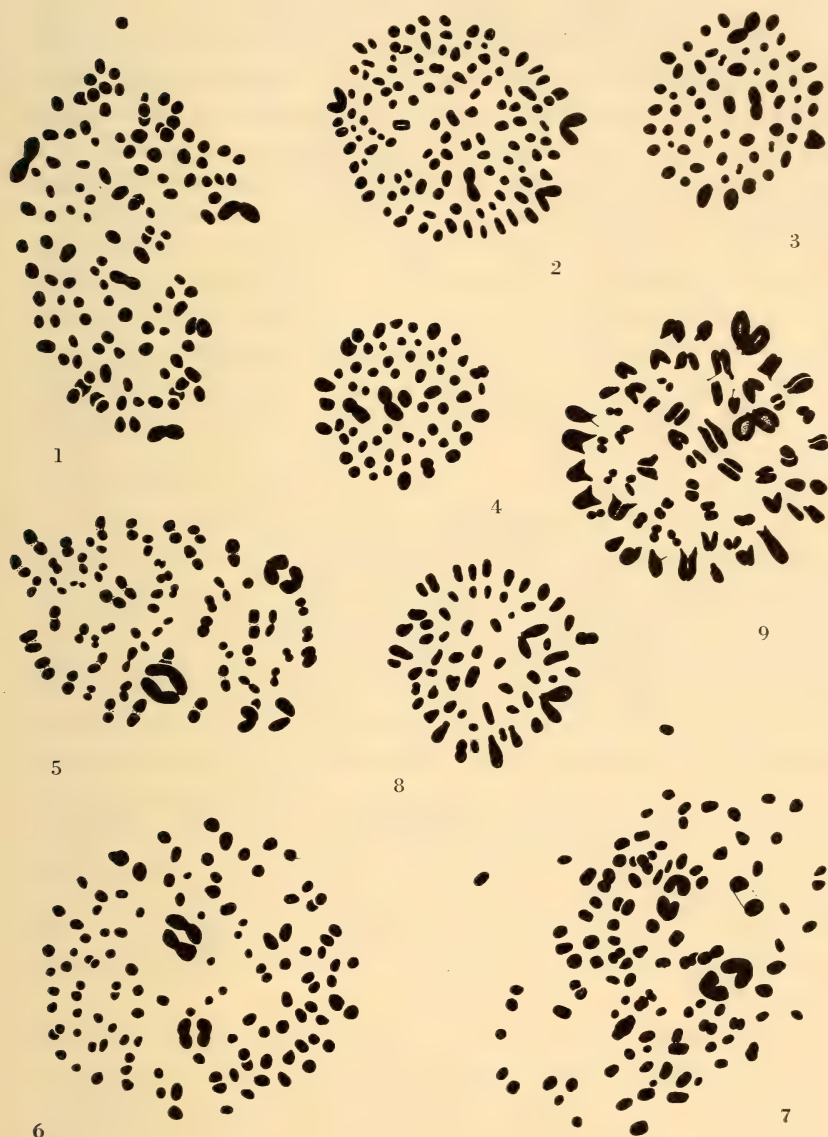
(Laboratoire de Zoologie et d'Anatomie comparée de l'Université.)

Les scorpions constituent un matériel de choix pour l'étude cytologique par le fait que, malgré le peu d'espèces explorées du point de vue qui nous intéresse, leur garniture chromosomique se révèle très variée. Il apparaît en effet, à la suite de diverses

contributions (cf. MAKINO, 1951), que le nombre de chromosomes diffère, parfois même fortement, d'une forme à l'autre; que l'attachement des éléments au fuseau est de type monocentrique dans certains cas alors qu'il semble de nature polycentrique dans d'autres; enfin que des phénomènes de polymorphisme chromosomiques se sont manifestés dans le groupe. Cependant, ces données résultent presque exclusivement de l'examen de Buthidés et ce n'est que par des observations plus étendues dans les autres familles de l'ordre, négligées jusqu'à présent par les caryologistes, que nous connaissons avec plus de précision l'ampleur de cette variation chromosomique et que nous pourrions vraisemblablement comprendre quel en a été le mécanisme.

J'ai donc profité de l'occasion qui m'était offerte lors d'un voyage scientifique en Côte d'Ivoire pour fixer quelques scorpions appartenant à l'espèce *Pandinus imperator* Koch, abondamment représentée dans la forêt tropicale africaine et jusqu'ici ignorée cytologiquement. Des fragments de testicule ont été traités au carmin acétique, écrasés entre lame et lamelle, et colorés définitivement à la fuchsine basique de Feulgen. Ce sont ces préparations qui ont été à la base du présent travail.

Les plaques métaphasiques des spermatogonies sont formées par de nombreux éléments dont la numération n'est pas toujours aisée. Toutefois, dans les figures bien étalées, où les quelques superpositions, inévitables dans un tel matériel, sont évidentes, on relève la présence de 120 chromosomes (fig. 1 et 2). Ce nombre se trouve confirmé par l'observation des cinèses réductionnelles: on dénombre facilement 60 tétrades à la métaphase auxocytaire et 60 dyades dans les secondes divisions de maturation (fig. 3 et 4; 8 et 9). Ainsi, l'écart entre les nombres minimum et maximum de chromosomes connus chez les scorpions, que l'on savait déjà très grand puisqu'il était compris entre $2N = 6$, valeur caractérisant la forme normale de *Tityus bahiensis* (PIZA, 1939), et 100 environ, chiffre attribué par WILSON à deux Véjovidés, *Hadrurus hirsutus* et *Vejois boreus*, se révèle maintenant plus important encore. Il apparaît également que la formule chromosomiale doit varier fortement entre représentants des Scorpionidés, famille à laquelle appartient notre espèce, *Opisthacanthus elatus* ne possède en effet qu'une soixantaine d'éléments diploïdes (WILSON, 1931). Notons enfin que nos résultats corroborent les conceptions de KRAEPELIN



Pandinus imperator Koch ♂

FIG. 1 et 2: Métaphases spermatogoniales. FIG. 3 et 4: Métaphases I en vue polaire. FIG. 5: Début d'anaphase I. FIG. 6 et 7: Anaphases I plus avancées. FIG. 8: Métaphase II en vue polaire. FIG. 9: Début d'anaphase II. (Feulgen. Gross. lin. 2000 environ).

(1905) sur l'évolution de l'ordre. Rappelons brièvement que cet auteur admet d'après des critères de morphologie externe que deux groupes se seraient différenciés à partir des scorpions primitifs, les Apoxypodes et les Anthracoscorpia, et cela vraisemblablement au Silurien. Les premiers auraient donné naissance aux Buthidés actuels; les seconds seraient à l'origine des autres familles dont les Bothriuridés se seraient isolés très tôt. On constate cytologiquement que les Buthidés sont caractérisés par un nombre relativement bas de chromosomes, atteignant au plus $2N = 26$ chez *Centruroides* (*Centruroides*) *exilicauda* (WILSON, 1931); les Scorpionidés, les Chactidés et les Véjovidés le sont par un nombre beaucoup plus élevé: $2N = 60-62$ pour *Opisthacanthus elatus* (WILSON, 1931), 70-80 pour *Euscorpium carpathicum* (SOKOLOV, 1913), environ 100 pour *Vejois boreus* et *Hadrurus hirsutus* (WILSON, 1931), et enfin 120 pour *Pandinus imperator*. Les Bothriuridés, avec $2N = 36$ chez *Bothriurus* sp. (PIZA, 1947), occupent une situation intermédiaire.

A l'exception des quatre plus grands chromosomes du lot, qui sont incontestablement des métacentriques, la position des centromères n'apparaît pas avec évidence dans les cinèses spermatogoniales où les éléments, de petite taille, ont un aspect globuleux (fig. 1 et 2). L'analyse de la première division de maturation, aux tétrades fortement condensées, n'apporte aucune précision nouvelle (fig. 3 à 7). En revanche, la métaphase et surtout les débuts d'anaphase des secondes cinèses réductionnelles montrent que nous avons affaire à des acrocentriques (fig. 8 et 9). Il semble donc que la présence de chromosomes polycentriques soit limitée à quelques Buthidés seulement. D'autre part, toute comparaison d'ordre morphologique entre la garniture chromosomique de *Pandinus imperator* et celle de *Opisthacanthus elatus* est pour l'instant sans intérêt, les données de WILSON sur ce dernier Scorpionidé étant insuffisantes.

Le nombre élevé d'éléments ne facilite pas l'étude des stades post-pachytènes et nous empêche de connaître quelle est la nature du mécanisme maintenant les chromosomes appariés. L'examen des tétrades au cours de la division auxocytaire ne révèle que les faits suivants: à la métaphase, les constituants des bivalents sont étroitement associés et les configurations qu'ils forment n'indiquent pas la présence de chiasmata; dès que se manifeste la répulsion anaphasique les dyades se séparent sans que l'on puisse déceler

des traces de résistance dues à des échanges antérieurs de segments (fig. 5 à 7). Ces observations n'autorisent toutefois pas de conclure que *Pandinus imperator* soit caractérisé, de même que *Tityus bahiensis* par exemple, par une méiose dépourvue de formation chiasmatique. Si le degré de terminalisation était très élevé, le comportement des paires d'éléments serait le même que celui que nous avons remarqué à la maturation. Seule une étude entreprise sur un matériel voisin mais plus favorable permettra de trancher la question.

Enfin, indiquons que nous n'avons pu, de même que d'autres auteurs, identifier chez les ♂♂ des hétérochromosomes. Aucun élément n'est marqué de la leptoténie à la diacinèse par des phénomènes d'hétérochromatie et le comportement de tous les bivalents nous est apparu identique lors des divisions de réduction.

AUTEURS CITÉS

- KRAEPELIN, K. 1905 *Die geographische Verbreitung der Skorpione*. Zoolog. Jahrb., Abt. Syst. 22: 321-364.
- MAKINO, S. 1951. *An Atlas of the Chromosome Numbers in Animals*. 2^e édit. Ames: Iowa State College Press.
- PIZA, S. DE T. 1939. *Comportamento dos cromossômios na primeira divisão do espermatoócito do Tityus bahiensis*. Sci. genet. 1: 255-261.
- 1947. *Notas sobre cromossômios de alguns escorpiões brasileiros*. Ann. Esc. Agric. Queiroz 3: 169-176.
- SOKOLOV, I. 1913. *Über die Spermatogenese der Skorpione*. Arch. Zellforsch. 9: 399-432.
- WILSON, E. B. 1931. *The distribution of sperm-forming material in scorpions*. J. Morph. 52: 429-483.
-

	Pages
N° 16. E.-J. CHAROLLAIS. Les métabolites des androgènes (17-cétostéroïdes) au cours du cycle normal et après hypophysectomie du Cobaye femelle	288
N° 17. Ernst SUTTER. Radar-Beobachtungen über den Verlauf des nächtlichen Vogelzuges. Mit 4 Abbildungen	294
N° 18. H. URSPRUNG. Untersuchungen zum Anlagemuster der weiblichen Genitalscheibe von <i>Drosophila melanogaster</i> durch UV-Strahlenstich	303
N° 19. H. MISLIN und H. HELFER. Erregungsleitung in der Wand der Flughautvenen (Chiroptera-Dreivenenpräparat). Mit 3 Textabbildungen	311
N° 20. Ernst HADORN. Über die Bildung der roten Augenpigmente von <i>Drosophila melanogaster</i> in Transplantaten	317
N° 21. Rudolf WEBER. Die Kathepsinaktivität im Schwanz von Xenopuslarven während Wachstum und Metamorphose	326
N° 22. Georg BENZ. Regionale Verteilung der Kathepsinaktivität im Schwanz von gefütterten und hungernden <i>Xenopus</i> -Larven	337
N° 23. H.-A. GUÉNIN. Contribution à la connaissance cytologique des Scorpions: les chromosomes de <i>Pandinus imperator</i> Koch. Avec 9 figures dans le texte	349

PUBLICATIONS
DU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

En vente chez GEORG & Cie, libraires à Genève.

CATALOGUE DES INVERTÉBRÉS DE LA SUISSE

Fasc. 1.	SARCODINÉS par E. PENARD	Fr. 12.50
Fasc. 2.	PHYLLOPODES par Th. STINGELIN	» 12.50
Fasc. 3.	ARAIGNÉES par R. DE LESSERT	» 40.—
Fasc. 4.	ISOPODES par J. CARL	» 8.—
Fasc. 5.	PSEUDOSCORPIONS par R. DE LESSERT	» 5.50
Fasc. 6.	INFUSOIRES par E. ANDRÉ	» 18.—
Fasc. 7.	OLIGOCHÈTES par E. PIGUET et K. BRETSCHER	» 18.—
Fasc. 8.	COPÉPODES par M. THIÉBAUD	» 18.—
Fasc. 9.	OPILIONS par R. DE LESSERT	» 11.—
Fasc. 10.	SCORPIONS par R. DE LESSERT	» 3.—
Fasc. 11.	ROTATEURS par E.-F. WEBER et G. MONTET	» 36.
Fasc. 12.	DÉCAPODES par J. CARL	» 11.50
Fasc. 13.	ACANTHOCEPHALES par E. ANDRÉ	» 11.—
Fasc. 14.	GASTÉROTRICHES par G. MONTET	» 18.—
Fasc. 15.	AMPHIPODES par J. CARL	» 12.50
Fasc. 16.	HIRUDINÉES, BRANCHIOBELLES et POLYCHÈTES par E. ANDRÉ	— » 17.—
Fasc. 17.	CESTODES par O. FUHRMANN	» 30.50
Fasc. 18.	GASTÉROPODES par G. MERMOD	» 55.—

LES OISEAUX DU PORT DE GENÈVE EN HIVER

par F. DE SCHAECK

Avec 46 figures dans le texte.

Fr. 7.—

En vente au Muséum d'Histoire naturelle de Genève.

CATALOGUE ILLUSTRÉ
DE LA COLLECTION LAMARCK
appartenant au
MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

1^{re} partie. — FOSSILES

1 vol. 4^o avec 117 planches.

Fr. 300.—

IMPRIMÉ EN SUISSE

540.5494
SD)
Tome 64

Fascicule 3 (N° 24 à 29)

Septembre 1957

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN

Conservateur des arthropodes

et

EUGÈNE BINDER

Conservateur des invertébrés



GENÈVE

IMPRIMERIE ALBERT KUNDIG

1957

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

Tome 64. En cours de publication.

	Pages
N° 1. Hans MATTER. Die formale Genese einer vererbten Wirbelsäulenmissbildung am Beispiel der Mutante Crooked-tail der Maus	1
N° 2. Robert MATTHEY. Cytologie comparée, systématique et phylogénie des <i>Microtinae</i> (<i>Rodentia-Muridae</i>). Avec 49 figures dans le texte)	39
N° 3. Jean-Luc PERRET et Robert MERTENS. Revision du matériel herpétologique du Cameroun, étudié par A. Monard . . .	73
N° 4. Jean-Luc PERRET. Découverte de la femelle de <i>Chamaeleo quadricornis</i> Tornier et note sur les Caméléons du Cameroun. Avec 2 figures dans le texte	79
N° 5. Nelly BUCHER. Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Keimzellen und somatischen Zellen im Ovar von <i>Drosophila melanogaster</i> . Mit 34 Textabbildungen und 4 Tabellen	91
N° 6. V. AELLEN. Les Chiroptères africains du Musée zoologique de Strasbourg	189
N° 7. H. B. N. HYNES. Note sur les <i>Gammarus</i> de Suisse	215
N° 8. E. MAYR. Die denkmöglichen Formen der Artentstehung . .	219
N° 9. U. RAHM. Wichtige Faktoren bei der Attraktion von Stechmücken durch den Menschen	236
N° 10. H. BURLA und A. KÄLIN. Biometrischer Vergleich zweier Populationen von <i>Drosophila obscura</i>	246
N° 11. H. WOKER und K. WUHRMANN. Die Reaktion der Bachfauna auf Gewässervergiftungen	253
N° 12. Hans WACKERNAGEL. Versuch einer zeitgemässen Zootierernährung	263
N° 13. Anne M. DuBois. Altérations provoquées chez le fœtus de Cobaye par l'injection d'alloxane à la femelle gravide . .	268
N° 14. D. ROSENBUSCH-WEIHS et K. PONSE. Actions rapides et lointaines de l'hypophysectomie chez le Cobaye	271
N° 15. O. LIBERT, R. DOVAZ et M. M. PERRET. Les métabolites de la progestérone (GBS) dans le cycle normal et après hypophysectomie chez le Cobaye	281

(Voir suite page 3 de la couverture)

Prix de l'abonnement :

Suisse Fr. 60.—

Union postale Fr. 65.—

(en francs suisses)

Les demandes d'abonnement doivent être adressées à la rédaction de la *Revue Suisse de Zoologie*, Muséum d'Histoire naturelle, Genève

Zur Entwicklung des Hechtes

von

Margarethe GIHR

aus Konstanz a. Bodensee (Deutschland)

Mit 63 Textfiguren

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung	356
Allgemeiner Teil:	
Material und Technik	356
a) Beschaffung und Aufzucht des Untersuchungsmaterials	356
b) Technik zur Durchführung der morpholog. und anatomisch-histologischen Untersuchungen	361
1) Morphologie	361
2) Anatomie und Histologie	361
c) Messtechnik	362
Spezieller Teil:	
I. Morphologie der Embryonalphase	368
1) Äussere Charakterisierung der Stadien A—K	369
2) Anatomisch-histologische Beschreibung der Stadien A—K	373
3) Das Verhalten des Embryo	392
II. Morphologie der Postembryonalphase	397
A. Anheftungsphase	397
1) Äussere Charakterisierung der Stadien 1—4	397
2) Anatomisch-histologische Beschreibung der Stadien 1—4	398
3) Das Verhalten des Jungfisches in dieser Periode	414
B. Freie Phase	417
1) Äussere Charakterisierung der Stadien I—V	417
2) Anatomisch-histologische Beschreibung der Stadien I—V	419
3) Das Verhalten des Junghechtes in dieser Periode	427
III. Relatives Wachstum verschiedener Körperabschnitte des Junghechtes während der Postembryonalperiode	439
IV. Zusammenfassung	464
Literaturverzeichnis	470
REV. SUISSE DE ZOOL., T. 64, 1957.	25

EINLEITUNG

Schon seit mehr als hundert Jahren sind die Knochenfische Gegenstand embryologischer und entwicklungsgeschichtlicher Untersuchungen. LEREBoullet (1854, 1862) war der erste, der sich eingehend mit der embryonalen Entwicklung des Hechtes befasste. Alle seine Untersuchungen jedoch blieben — den damaligen Verhältnissen entsprechend — begrenzt auf die äusserlich sichtbaren Formwandlungen des Hechteies. LINDROTH (1946) gibt in seiner Abhandlung „Zur Biologie der Befruchtung und Entwicklung beim Hecht“ ebenfalls nur einen kurzen, morphologischen Grundriss der ersten Entwicklungsstadien. Ausser kleineren Teilstudien, die im speziellen Teil noch nähere Erwähnung finden sollen, liegt bis heute keine umfassendere anatomisch - histologische Untersuchung über die Entwicklung des Hechtes bis zum Jungfisch vor. In der vorliegenden Arbeit wird versucht, diese Lücke auszufüllen, wobei die embryologische Beschreibung der Vorgänge ergänzt wird durch eine metrische Erfassung der postembryonalen Wachstumsvorgänge und durch die Aufstellung einer diese Stadien einschliessenden Normentafel. Im Speziellen soll dabei die Anlage und Ausgestaltung des Darmtractus bis zu seiner vollständigen Ausbildung zur Bearbeitung gelangen, ohne jedoch die Ausdifferenzierung seiner Anhangsorgane im weiteren zu verfolgen.

An dieser Stelle möchte ich auch meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. R. Geigy, für sein entgegenkommendes Interesse, seine wertvollen Ratschläge und die hilfreiche Unterstützung, die er meiner Arbeit zuteil werden liess, meinen herzlichsten Dank aussprechen.

ALLGEMEINER TEIL

MATERIAL UND TECHNIK

a) *Beschaffung und Aufzucht des Untersuchungsmaterials*

Ausgangspunkt und Grundlage meiner Untersuchungen war künstlich befruchteter Hechtlaich aus der Fischzuchstanstalt in

Sursee a/Sempacher See, den ich jeweils im Frühjahr 1952, 53, 55 von dort bezog. Als Ergänzungs- und Vergleichsmaterial (hauptsächlich für metrische Untersuchungen) diente eine lückenlose Serie fixierten Hechtmaterials aus dem Attersee (Österreich), die mir durch die Freundlichkeit Herrn Dr. Einseles von der Fischzuchtanstalt Kreuzstein zur Verfügung gestellt wurde.

Insgesamt gelangten 7 verschiedene Serien zur Auswertung, die — mit Ausnahme der Serie II — in einer eigenen Anlage erbrütet und aufgezogen wurden. Die Erbrütung des Laiches erfolgte in Zugerflaschen, die Aufzucht der Jungbrut in Fischtrögen von 100 Liter Fassungsvermögen. Im ersten Jahre gelangte Leitungswasser (aus dem Erlenspumpwerk Basel) in die Anlage, dessen Temperatur zu Beginn der Aufzucht 11°C , gegen Ende 14°C betrug. Um die Wassertemperatur während der langen Entwicklungsdauer, die sich von Ende April bis in den August hinein zog, einigermaßen regeln und konstant halten zu können, wurde das Wasser im darauffolgenden Jahre in einem besonderen Wasserbadthermostat auf 14°C erwärmt. Letzterer setzte sich aus einem Wasserbassin von 100 Liter Fassungsvermögen, einem elektrischen Heizstab, einem Thermoregulator und einem Rührwerk zusammen, welches durch einen Elektromotor für Dauerbetrieb ($N = 0,025\text{ PS}$) angetrieben wurde und während der ganzen Inbetriebnahme absolut zuverlässig arbeitete. Durch dieses geheizte Wasser, mit dem Erbrütungs- und Aufzuchtanlage gespeist wurden, konnte eine Temperaturkonstanz von $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ erreicht werden.

Die gewählte Temperatur von 14°C war in dreifacher Hinsicht günstig:

- 1) bevorzugt der Hecht zu seiner Entwicklung relativ warmes Wasser (LINDROTH 1946, p. 107). Es wurden somit seinen Bedürfnissen entsprechende Verhältnisse geschaffen.
- 2) konnte der später auftretende Kannibalismus, der sich besonders bei Temperaturen über 16°C bemerkbar macht, durch diese relativ niedrige Temperatur gedrosselt werden (EINSELE 1948).
- 3) wurde dieser Temperaturgrad vor allem deshalb gewählt, um Anfangs- und Endtemperatur gleichzuschalten. Erfahrungsgemäss stellte sich — wie bereits erwähnt — gegen Ende der Entwicklungsperiode (wärmere Jahreszeit) die Wassertemperatur auf diese Höhe ein.

Über die Qualität des aus dem Erlenpumpwerk zufließenden Leitungswassers möge Tabelle 1 informieren. Die dort zusammengestellten Werte sind im Erlenpumpwerk gewonnen und mir gütigst zur Verfügung gestellt worden.

Nach SCHÄPERCLAUS (1933) liegt ein gutes Teichwasser zwischen pH 7—8, zeigt also schwach alkalische Reaktion. Infolge des grossen, optimalen Kohlesäurevorrates sind pH Schwankungen sehr gering. In diesem sehr „fruchtbaren“ Wasser mit gutem Säurebindungsvermögen (2—5 ccm n HCl/l) ist die Gesundheit der Fische nicht gefährdet. Diesen Anforderungen entspricht auch das für meine Aufzucht verwendete Leitungswasser, abgesehen vielleicht vom relativ hohen Chlorgehalt des Wassers, von dem man nach Aussagen von Fachleuten für den Hecht toxische Wirkung erwarten sollte; meinerseits konnte ich allerdings in den Aufzuchten keine nennenswerten Störungen beobachten. Auch bestand kein Unterschied zur Serie II aus dem Attersee.

Über die Qualität des Zuchtwassers der Atterseehechte liegen nur ungefähre Angaben vor. Nach Mitteilung von Herrn Dr. W. EINSELE ist das in die Becken einfließende Wasser O₂-gesättigt, seine Härte beträgt 8—10 deutsche Grade, der CO₂-gehalt einige mg/l. Beim Einfließen in die Becken hat das Wasser praktisch keine O₂-Zehrung, da es aus einer sehr starken Quelle und einem reinen Gebirgsbach gespeist wird. In einem Wasserraum von 4000 l werden bis zu 10 000 Hechte aufgefüttert, wobei es wahrscheinlich zu einem zeitweiligen Permanganatverbrauch von 100 bis einigen 100 mg/l kommen kann. Täglich jedoch erhalten die Becken 10 000—20 000 l Frischwasser und werden sorgfältig gereinigt.

Nach WILLER (1924), SCHÄPERCLAUS (1933), EINSELE (1948, 53) nimmt die fressfähig gewordene Brut nur lebendes Futter, zuerst Plankton (Cladoceren), welches jedoch bereits nach 8-tägiger Fütterung durch Fischbrut oder Insektenlarven ersetzt werden kann. Es ist jedoch möglich, kleine Hechte bis zu einer Länge von 6—8 cm ausschliesslich mit Plankton zu füttern. Während bei der Aufzucht der Atterseehechte so vorgegangen wurde, erhielt die in Basel aufgezogene Brut zusätzlich noch Tubifex, da Plankton nicht in genügender Menge beschafft werden konnte.

Tabelle 2 gibt einen kurzen Überblick über die Aufzuchtbedingungen der einzelnen Serien und die Zusammensetzung und Verteilung des zur Untersuchung verwendeten Materials.

TABELLE 1.

*Chemie des Leitungswassers aus dem Erlenpumpwerk Basel
1952 und 1953.*

Datum	Wasser- temp. in C°	Karbonat- härte i. fr. H°	pH	CO ₂ (freie Kohlen- säure i. mg/l)	O ₂ - sättigung in %	O ₂ in mg/l	freies Chlor in mg/l ²
1952							
21.4	9,3	8,7	—	5,0	—	—	↑ 0,06 bis 0,08 ↓
28.4	8,7	8,0	—	4,0	—	—	
5.5	9,3	8,5	—	7,0	—	—	
12.5	9,3	8,5	—	7,5	—	—	
19.5	10,3	8,5	—	10,0	—	—	
26.5	10,2	8,5	—	8,0	—	—	
3.6	11,4	9,0	—	8,5	—	—	
9.6	11,2	8,5	—	7,0	—	—	
16.6	11,6	9,5	—	8,0	—	—	
23.6	12,6	10,5	—	8,0	—	—	
30.6	14,4	10,5	—	12,5	—	—	
7.7	12,8	10,5	—	14,5	—	—	
1953							
13.1	10,0	9,0	7,05 ¹	5,5	77,3 ¹	8,7 ¹	—
20.4	8,2	7,0	—	5,5	—	—	—
27.4	8,2	7,5	—	6,0	—	—	—
4.5	8,7	6,7	—	3,0	—	—	—
11.5	8,5	8,0	—	3,0	—	—	—
18.5	9,1	8,5	—	4,0	—	—	—
26.5	10,2	8,5	—	5,0	—	—	0,10
1.6	9,2	9,5	—	4,5	—	—	0,10
8.6	10,6	8,5	—	5,0	—	—	0,10
15.6	10,2	9,5	—	5,0	—	—	0,10
22.6	11,0	7,0	—	3,5	—	—	0,09
29.6	10,6	9,5	—	6,5	—	—	0,10
8.7	11,0	9,5	7,50 ¹	9,0	67,3 ¹	7,4 ¹	0,10
13.7	11,5	10,0	—	10,5	—	—	0,10
20.7	11,8	9,0	—	6,0	—	—	0,09
27.7	13,2	9,5	—	9,5	—	—	0,11
3.8	12,3	9,2	—	6,5	—	—	0,10
10.8	12,3	10,0	—	7,5	—	—	0,10

¹ Die pH-Werte und O₂-Werte wurden nur sporadisch bestimmt, da sie keinen grossen Schwankungen unterworfen sind.

² Die Chlorierung des Leitungswassers erfolgte unter Verwendung von Chlordioxyd.

TABELLE 2.

Hechtmaterial des Sempachersees							Attersee-Hechte	Adulte Hechte a.d. Rhein u.a. Holland
Serie	I	III	IV	V	VI	VII		
Homogenes Untersuchungsmaterial (1 ♂ × 1 ♀)	+	+		+	+		II	VIII
Inhomogenes Untersuchungsmaterial (1 ♂ × mehrere ♀, mehrere ♂ × mehrere ♀)			+			+	+	+
Aufzucht unter Temperaturregelung d. Erbrütungswassers	+			+	+			
Aufzucht o. Temperaturregelung d. Erbrütungswassers		+	+			+	+	
Temperatur-Mittel in ° C	14,4	12,5	12,1	14	13,8	10,1	Erbrüts.-temp. = 5—8° Temp. während d. Aufzucht d. Jungf. = 10—16°	
Zeitdauer d. Aufzucht i. Tagen (incl. Tag d. Befruchtung)	94	38	19	85	26	10	78	
Material f. morph. Untersuchungen . .	+	+	+	+	+	+	+	+
Material f. anat.-hist. Untersuchg. . .	+	+		+	+		+	
Material f. metr. Untersuchg.	+	+					+	+

b) *Technik zur Durchführung der morphologischen und anatomisch-histologischen Untersuchungen.*

1. *Morphologie.*

Als Ergänzung zu den Lebendbeobachtungen während der Aufzucht dienten Untersuchungen am fixierten Präparat. Dies betrifft vor allem die embryonalen Stadien, die zu diesem Zweck aus der Eihülle befreit und mit Methylenblau angefärbt wurden.

2. *Anatomie — Histologie.*

Als Standardfixierungsmittel für alle Stadien diene das Fixierungsgemisch nach BOUIN-DUBOSCQ, mit dem sehr gute Resultate erzielt wurden. In wenigen Fällen gelangte auch die Fixierungsmethode nach CARNOY, KOPSCH, sowie reine Formolfixierung (4%) zur Anwendung.

Die Fixierung der Eier und Jungbrut erfolgte stets total, im letzteren Fall erst nach vorausgegangener Narkotisierung mit M.S. 222-Sandoz¹. Die Einbettung der Objekte erfolgte in Paraffin ($\frac{2}{3}$ 58° + $\frac{1}{3}$ 52° + 5% Bienenwachs),

a) über Methylbenzoat — Celloidin — Benzol (für dotterfreie Stadien)

b) über Terpeneol (Methode nach WETZEL, 1931)

c) über Toluol (Methode nach van MULLEM und VERWOORT, 1953)
(b und c besonders für dotterreiche Embryonalstadien).

Beide Methoden bewährten sich gut.

Für jedes Entwicklungsstadium wurden mehrere Schnittserien von Totalpräparaten angefertigt, sowohl in sagittaler als auch in horizontaler und transversaler Richtung. Die Schnittstärke betrug immer 7 μ . Zu Übersichtsfärbungen wurden benützt:

Haematoxylin DELAFIELD/Eosin

„ „ /Metanilgelb, Mucicarmin

„ „ /Bismarckbraun, Picroindigocarmin

„ HEIDENHAIN/Eosin

„ „ /Metanilgelb, Mucicarmin

¹ Das von der Firma Sandoz A.G., Basel, hergestellte M. S. 222 ist ein gut wasserlösliches Narkotikum für poikilotherme, aquatile Wirbeltiere (ROTHLIN, 1932); chemisch ist es ein Isomeres des Anästhesins.

Azanfärbung nach HEIDENHAIN

Eisentríoxyhaematein nach HANSEN/Lichtgrün oder Eosin

Molybdänhaematoxylin nach HELD.

c) Messtechnik

Um die Formwandlung des Hechtes biometrisch erfassen zu können, wurden einzelne dafür charakteristische Messtrecken festgesetzt.

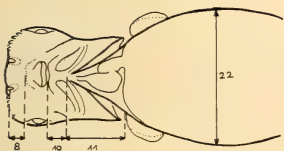
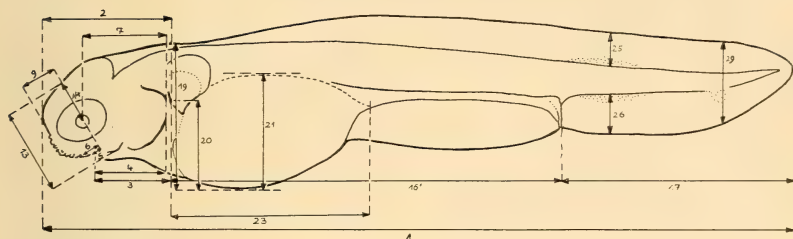
Aus nachfolgender Beschreibung und Abb. 1 *a, b, c* und 2 *a, b, c, d, p.* 363 ist die genaue Definition und Lage der ausgewählten Messtrecken ersichtlich.

Für die in lateraler Objektlage ausgeführten Messungen dient das Symbol L, für die dorsal bzw. ventral gemessenen Strecken entsprechend die Bezeichnung D resp. V.

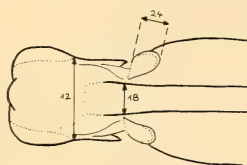
Messtrecken der Serien I, II, III, VIII.

- L 1) Gesamtkörperlänge incl. Schwanzflosse,
bei VIII nur bis Schwanzflossenwurzel
- L 2) Kopfspitze — Brustflosse (dorsaler Rand der Brustfl.-basis)
- L 3) Unterkieferspitze — Brustflosse (wie bei L 2)
- L 4) Unterkieferspitze — Operkelrand (caudal)
bei III Kopfspitze — Operkelrand
- L 5) Unterkieferspitze — Augenmitte
bei III Kopfspitze — vorderer Augenrand
- L 6) Oberkieferspitze — Augenmitte
- L 7) Augenmitte — Operkelrand
bei III caudaler Augenrand — Operkelrand
- L 8) Oberkieferspitze — Nasengrubenmitte
- L 9) Nasengrubenmitte — Augenmitte
- V 10) Unterkieferspitze — Hyale
- V 11) Hyale — Brustflosse (wie bei L 2)
- D 12) Kopfbreite (caudaler Augenrand)
bei VIII i. Augenmitte
- L 13) Kopfhöhe (Augenmitte: von „Unterkieferwinkel“ —
Schädeldach)
bei III: caud. Augenrand: „UK- winkel“ — Schädel-
dach)
- L 14) Augenmitte — Schädeldach

a) lateral



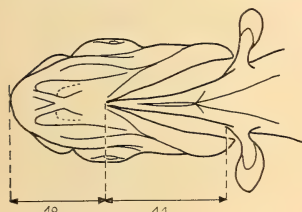
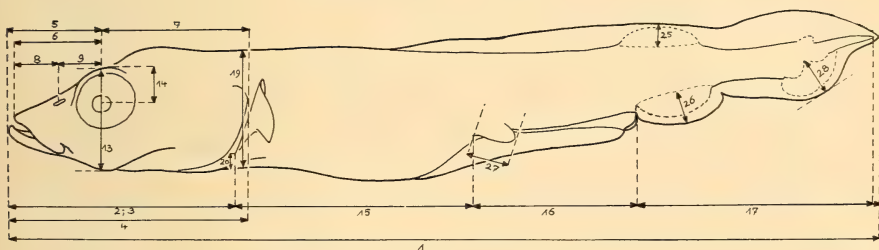
b) ventral



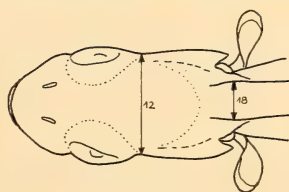
c) dorsal

ABB. 1.
Anheftungsphase.

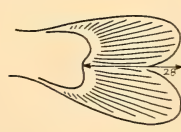
a) lateral



b) ventral



c) dorsal



d)

ABB. 2.
Freie Phase.

- L 15) Brustflosse (wie bei L 2) — Bauchflosse
- L 16) Bauchflosse — Anus (caudaler Rand)
- L 16') Brustflosse (wie bei L 2) — Anus
- L 17) Anus (caudaler Rand) — Wirbelsäulenende bei I
 - incl. Schwanzflosse bei II, III
 - Schwanzflossenwurzel bei VIII
- D 18) Rumpfbreite (in der Gegend der Brustflossenbasis)
- L 19) Rumpfhöhe (in der Gegend der Brustflossenbasis)
- L 20) Brustflosse (wie bei L 2) — Ventralseite des Rumpfes
- L 21) Dottersackhöhe
- V 22) Dottersackbreite
- L 23) Dottersacklänge
- L 24) Brustflossenlänge (nur bei III, VIII)
- L 25) Rückenflossenlänge (nur bei III, VIII)
- L 26) Afterflossenlänge (nur bei III, VIII)
- L 27) Bauchflossenlänge (nur bei III, VIII)
- L 28) Schwanzflossenlänge (nur bei II, VIII)
- L 29) Schwanzflossenbreite (nur bei III).

Die Messungen wurden an drei verschiedenen Serien embryonalen Materials durchgeführt; da eine Schrumpfung der Gewebe mit keinem Fixierungsmittel ganz zu umgehen ist, wurde, um Unterschiede bei den Messungen zu vermeiden, einheitlich in BOUIN-DUBOSCQ fixiert.

Zur genauen Kenntnis der adulten Proportionen und zum Vergleich des relativen Körperwachstums mit den an embryonalem Material gewonnenen Resultaten dienten Messungen an ausgewachsenen toten, aber nicht fixierten Exemplaren.

Alle Messungen erfolgten indirekt unter Zuhilfenahme eines LEITZ-Binokulars mit eingebautem Mikrometerokular. Um grössere Messfehler zu vermeiden, musste stets darauf geachtet werden, dass die Objekte in ausgestreckter und ganz horizontaler Lage fixiert waren. Abb. 3 a, b, p. 365, zeigt schematisch dargestellt die Anordnung, die hinreichend genaue Messungen ermöglichte mit einem Messfehler von $\pm 2^1$. Sie bestand aus einer Glascuvette (GL), in die eine Korkscheibe (K) so eingelassen war, dass sie unter 75% Al-

¹ Der Messfehler wurde nach der Formel $\sigma = \sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{n - 1}}$ berechnet.

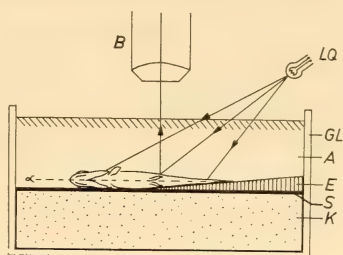
kohol (A) durch eigene Saugkraft der Glaswand satt ansass. Ein ihr aufgeklebtes, schwarzes Papier (S) bildete zu den zur Untersuchung gelangenden, hellen Objekten eine kontrastreiche Unterlage. Bei lateraler Objektlage wurde das Tier mit dem Schwanzteil auf einer schiefen Ebene (E) so gelagert, dass die Körperlängsachse (α) parallel zur Unterlage verlief. Zwei schmale Bändchen (BD), über Rumpf- und Schwanzteil angebracht, fixierten das Objekt in genügender Weise, ohne es selbst zu deformieren. Die Einstellung und Ausmessung der einzelnen Strecken erfolgte im Aufsicht, das durch eine starke Lichtquelle (LQ) erzeugt wurde.

Entsprechend erfolgte auch die Anordnung bei ventral und dorsal ausgeführten Messungen.

Statistische Auswertung des Materials:

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, wurden für die biometrischen Untersuchungen die embryonalen Serien I, II, III und die Serie VIII (Adulttiere) verwendet. Den berechneten Mittelwerten \bar{x} (arithmetisches Mittel) liegen

- in Serie I je 10 Einzelwerte
- in Serie II je 60 Einzelwerte ¹
- in Serie III je 10 Einzelwerte zugrunde



a) Seitenansicht

b) Aufsicht:

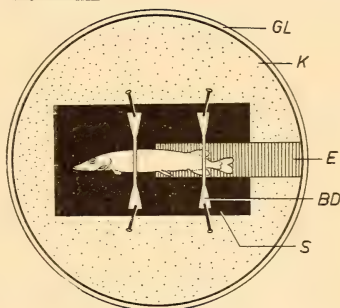


ABB. 3.

Anordnung zur Durchführung der Messungen.

¹ Mit Ausnahme des 1. Mittelwertes $\bar{x} = 16$ Einzelwerte des 6. letzten

5.	55	45	„
4.	28	55	„
3.	20	28	„
2.	21	20	„
1.	18	21	„

In Serie VIII entsprechen hingegen die Messwerte nur Einzelwerten, die an verschiedenen grossen und an verschiedenen alten Exemplaren gewonnen wurden. Zur Darstellung der Wachstumskurven und zur Bestimmung der Wachstumskonstante a wurden die Mittelwerte in einem doppelt logarithmischen Koordinatensystem aufgetragen.

Für Serie I und II wurde die Streuung der Stichprobenmittel-

werte ($\sigma\bar{x}$) berechnet nach der Formel
$$\sigma\bar{x} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

und der Variationskoeffizient V bestimmt nach der Formel
$$V = \frac{\sigma}{\bar{M}}$$

\bar{M} stellt dabei den theoretischen Mittelwert dar, der annähernd gleich ist dem empirischen Mittelwert \bar{x} (arithmetisches Mittel)
 \bar{x} = die Summe aller Einzelwerte, dividiert durch die Anzahl der

Elemente der Stichproben.
$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

σ = die Streuung der Einzelwerte zum Mittelwert
$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Alle Werte der Wachstumsgeraden sind in Mikrometereinheiten angegeben, wobei eine Mikrometereinheit einer Länge von 0,025 mm entspricht.

Die Herstellung der Zeichnungen erfolgte an fixierten Exemplaren

für die Stadien B—K, Abb. 5 mit dem ZEISS / WINKEL'schen Zeichenapparat

für die Stadien 1—4, Abb. 10

I—V, Abb. 12—14 nach photographischen Aufnahmen.

Die Stadien H, 1, 3, 4, Abb. 11 = Rekonstruktionen (aus Schnittpräparaten).

Stadium B—K, Abb. 4 = Photogr. Aufnahmen (fix. Expl.)

Abb. 6, 7 = „ „ „ (lebende Expl.)

- Abb. 8, 9 und 16—28 = Photogr. Aufnahmen
Abb. 29 = Zeichnung nach Schnittpräparat mit
dem ZEISS/WINKEL'schen Zeichen-
apparat.

Den Herren Waltisberg von der Fischzuchtanstalt Sursee a. Sempachersee möchte ich an dieser Stelle für die vorzügliche Bereitstellung und Lieferung von Hechtlaich herzlich danken. Ebenso möchte ich Herrn Dr. W. Einsele für die gütige Überlassung einer lückenlosen Serie fixierten Hechtmaterials meinen besten Dank aussprechen, sowie Herrn Dr. Batschelet für seine wertvollen Ratschläge und seine Unterstützung in der statistischen Bearbeitung der Messergebnisse und Herrn O. Widemann für die freundliche Überlassung der chemischen Werte des Trinkwassers aus dem Erlenspumpwerk Basel.

SPEZIELLER TEIL

Nach GEIGY und PORTMANN (1941) gehören die Teleostier zu den Formen mit abhängiger Ontogenese. Ihre Entwicklung ist eine direkte; denn sie führt ohne eigentliche Metamorphose zum Adultzustand. Sie bleibt aber insofern eine abhängige und ist — im Gegensatz zu den Formen mit unabhängiger Ontogenese — als eine sekundäre zu bezeichnen, als die Embryonen während der embryonalen und postembryonalen Periode mit transitorischen Hilfsorganen (Dottersack, protocerker Flossensaum, Haftapparat) ausgestattet sind. Diese verlieren bei vorgerückter Entwicklung wieder ihre Funktion und werden abgebaut.

Die Ontogenese von *Esox lucius* zeichnet sich durch eine solche Abhängigkeit aus. Sie zerfällt in 2 grosse Abschnitte:

- I) in die Embryonalphase
- II) in die Postembryonalphase,

die sich wiederum A) in die Anheftungsphase

B) in die freie Phase gliedert.

Am Ende der letztgenannten Periode hat der Junghecht jenen Entwicklungsgrad erreicht, den wir als Adultzustand definieren. Dies soll in unserem Fall bedeuten, dass die äusseren Körperproportionen, zusammen mit dem Entwicklungsgrad der inneren Organe (speziell des Darmes) den Verhältnissen eines ausgewachsenen Hechtes annähernd entsprechen. Wir schliessen im Begriff Adultzustand nicht, wie dies sonst etwa geschieht, die Geschlechtsreife mit ein.

I. MORPHOLOGIE DER EMBRYONALPHASE

Über die Entwicklung der Knochenfische liegen zahlreiche Arbeiten vor, hauptsächlich aus der zweiten Hälfte des letzten Jahrhunderts. Sie fanden zusammenfassende Darstellung in verschiedenen Hand- und Lehrbüchern, so bei BALFOUR 1881, ZIEGLER 1902, HERTWIG 1906, BRACHET 1935, KORSCHOLT und HEIDER 1936.

Speziell über die Entwicklung des Hechtes finden sich in der Literatur relativ wenig Arbeiten. LEREBoullet (1854, 1862) gibt — wie eingangs bereits erwähnt — in seinen grundlegenden Untersuchungen nur eine chronologische Beschreibung des äusseren Entwicklungsablaufes. Ausgehend vom unbefruchteten Ei im Ovar behandelt er die ganze Ontogenese bis zum Stadium der freien Nahrungsaufnahme in vier Entwicklungsstufen. Unzulänglich bleiben die ebenfalls rein descriptiven, kurzen Beobachtungen, die TRUMAN (1869) über die Ontogenese des Hechtes gibt. AUBERT (1856) behandelt die Bildung des Herzens, GENsch (1882) und ZIEGLER (1887) die Entstehung des Blutes. Es ist das Verdienst ROSENBERGS (1867), die früheste Entwicklung der Niere beim Hecht histologisch untersucht zu haben, nachdem bereits LEREBoullet und REICHERT (1856) die Existenz dieses Organs nachgewiesen hatten. Eine sehr gute histologische Darstellung der Bildung des Medullarstranges bei *Esox lucius* gibt zum 1. Mal JABLONOWSKI (1899). Er weist auf die extreme Stellung dieses Fisches unter den Teleostiern hin, die im Vergleich zu den Salmoniden manche interessante Verschiedenheit der Entwicklung aufzeigt. Die eigentümliche Bildung der KUPFFER'schen Blase bei den Teleostiern, die nur vorübergehend auftritt und deren physiologische Bedeutung bis in die neueste Zeit noch nicht geklärt ist (PETER, 1947), beschrieb

v. KUPFFER (1884) für Stint (*Osmerus eperlanus*) und Hecht. Er betrachtete sie als Resultat einer Einstülpung von aussen. 1884 gibt er eine kurze Abhandlung über die Bildung des Primitivstreifs beim Hecht. 1889 berichtigt SCHWARZ die Angaben v. KUPFFERs über die Entstehungsweise der KUPFFER'schen Blase. Nach seinen Untersuchungen tritt sie innerhalb der medianen Entodermverdickung kurz nach dem Verschluss des Blastoporus auf. MAURER beschreibt 1884 die Differenzierung und Ausbildung der Pseudobranchie. 1929 befassen sich PORTMANN und METZNER mit der Verbindung von Leber und Dottersack bei den Teleostierlarven (Lachs und Hecht) und weisen den innigen Kontakt der Leberzellen mit dem Dotterentoderm histologisch nach. GRIEB (1932) bearbeitete die Ontogenese des Kiemendarmes bei den Teleostei, wobei er seine Untersuchungen auch auf den Hecht ausgedehnt hat. Ausser der Arbeit von REINKE (1937), die die Ontogenie und Anatomie des Geruchsorgans der Knochenfische (u. a. *Esox lucius*) behandelt, müssen wir diejenige von LINDROTH (1946) noch einmal erwähnen, in welcher er eine kurze Übersicht über den Entwicklungsgang des Hechtes gibt, bis zu dem Stadium, da der Flossensaum abgebaut wird und die unpaaren Flossen sich anzeigen. Er teilt die Entwicklung von der Befruchtung bis zum 1. Embryonalstadium in fünf Stufen ein, denen drei willkürlich gewählte Embryonalstadien folgen. Über die weitere Entwicklung gibt er nur einen allgemeinen Aspekt. Für die vorliegenden Untersuchungen wurde die Einteilung der Stadien nach äusseren Merkmalen und dem Entwicklungsgrad der Organe getroffen, nicht nach Alter oder Grösse, da sich hieraus — selbst bei gleichen Aufzuchtbedingungen und homogenem Material — kein zuverlässiger Gradmesser ergibt. Schon HENNEGUY (1888, p. 415) war dies bekannt.

1. Aeussere Charakterisierung der Stadien A—K

(Vergl. hierzu die Abb. 4 und 5, p. 394 + 395)

Stadium A:

Umfasst die ersten Entwicklungsvorgänge (Furchung, Bildung der Blastula) bis zur frühen Gastrulation, die mit der Abflachung des Blastoderms und der Bildung des Randwulstes und Embryonalschildes einsetzt. Gleichzeitig beginnt auch die Umwachsung des Dotters durch die Keimscheibe.

Stadium B: 3—4 Somiten

(= Fig. 39 LEREBoullet, Stadium 4—5 JABLONOWSKI,
Stadium 7, 8 KOPSCH)

Der Dotter ist zu $\frac{4}{5}$ seines Umfanges oder nahezu ganz umwachsen (Dotterpfropfstadium). An der Medullarplatte, die eine deutliche Mittelfurche (sillon dorsal, LEREBoullet) aufweist, sind die drei Abschnitte des Prosencephalon, Mesencephalon und Rhombencephalon zu unterscheiden. Am Prosencephalon präsentieren sich die Augen als laterale Wülste. Hinter den drei abgegliederten Somitenpaaren geht die Embryonalanlage in das undifferenzierte Zellmaterial des Randringes über.

Stadium C: 5—10 Somiten

(= Fig. 41, LEREBoullet, Stad. 5 JABLONOWSKI, Stad. 8 KOPSCH)

Der Blastoporuschluss ist im Vollzug oder bereits ausgeführt. Eine ganz feste Beziehung zwischen dem Schluss des Blastoporus und der Entwicklungsstufe des Embryo besteht jedoch (nach JABLONOWSKI 1899) hier ebensowenig wie bei den Salmoniden. Der Keim, flach über dem Dotter ausgebreitet, umspannt ca $\frac{1}{2}$ der Dotterkugel. Prosencephalon, Mesencephalon, Rhombencephalon sind deutlicher voneinander abgegrenzt als im Stadium B. Die primären Augenblasen überragen in seitlicher Ausdehnung das Mittelhirn. Hinter den Somiten liegt die noch undifferenzierte Schwanzanlage. (Schwanzknopf nach ZIEGLER.)

Stadium D: 10—20 Somiten (= Stad. 9 KOPSCH)

Der Keimstreifen umfasst immer noch ca $\frac{1}{2}$ der Dotterkugel. In ihrem rostralen Abschnitt zeigt die Embryonalanlage zum ersten Mal das Bestreben, sich aus der Fläche zu erheben und ventral zusammenzuschliessen. Die primären Augenblasen beginnen sich, äusserlich noch kaum sichtbar, zu Augenbechern einzustülpen. Die Linsenanlage als ektodermale Verdickung ist dem Augenbecher flach angelagert. Das Prosencephalon tritt nun deutlich in seiner ganzen Abgrenzung hervor. Im medianen Teil der Gehirnplatte erscheint eine dunkle Linie, die sich noch eine Strecke weit ins Rückenmark fortsetzt. Sie ist der erste Ausdruck des in Entstehung begriffenen Zentralkanal. Der Hyoidwulst und der dritte Visceralbogen erscheinen im Gebiet des Rhombencephalons und

bilden zusammen eine bohnenförmige Anlage; dicht dahinter macht sich die epidermale Verdickung der Seitenlinienanlage geltend. Die ersten Somiten sind bereits abgewinkelt. Hinter dem undifferenzierten Zellmaterial des Schwanzknopfes zeichnet sich eine u-förmige Rinne des Dotterepithels ab.

Stadium E: 25—30 Somiten

(= Fig. 46, LEREBoullet, Stad. 6, JABLONOWSKI,
Stad. 10, KOPSCH).

Der Embryo nimmt ca $\frac{2}{3}$ des Umfanges der Dotterkugel ein. Als besonderes Charakteristikum dieses Stadiums tritt die Differenzierung der Rautengrube in Erscheinung, der eine Verbreiterung des Zentralkanal in einen linken und rechten queren Ausläufer einhergeht. Das Linseneptithel wuchert in die Tiefe des Augenbechers. Dorsal über der Anlage der Schlundbogen im Bereich des Nachhirns macht sich die Lichtung der Ohrblase bemerkbar.

Stadium F: 30—35 Somiten

(= Fig. 47, 48, LEREBoullet; Stadium 11,12, KOPSCH).

Der Keim umspannt $\frac{2}{3}$ der Dotterkugel. Im Pros-, Mes- und Rhombencephalon setzt die Ventrikelbildung ein. Mittelhirn und Rautenhirn haben stark an Masse zugenommen. Die Seitenhälften des letzteren sind weit auseinandergeklappt und lassen den in fünf Abschnitte segmentierten Boden des Nachhirns deutlich in Erscheinung treten (LEREBoullet 1862). Besonders im Gebiet des Ohrbläschens repräsentieren sich zwei stärkere Ausbuchtungen. Dorsal hat sich die unpaare Epiphyse vom Prosencephalon abgliedert, während sich — ebenfalls dorsal — die Anlage der Riechgrube im Winkel zwischen Augenbecher und Vorderhirn differenziert (LEREBoullet 1862). Medioventral ist eine einheitliche Pericardialhöhle angelegt. Lateral des Rumpfes im Bereich des 1.—4. Somiten zeichnen sich die ersten Vorläufer der Brustflossen als bindegewebige Verdickung ab. Der noch undifferenzierte Schwanzknopf wächst frei über den Dottersack hervor.

Stadium G: 35—45 Somiten

(= Stad. 12, KOPSCH).

Die Linsenknospe ist nur noch durch einen dünnen Stiel mit der Epidermis verbunden. Am caudalen Ende des Embryo differen-

ziert sich der Flossensaum als mediane niedere Leiste. Die Brustflossenanlage wird mit Muskelknospen des ersten bis sechsten Somiten versorgt. Die Linksverlagerung des Pericards und des Herzschlauches setzt ein.

Stadium H: 45—55 Somiten.

Etwa $\frac{4}{5}$ der Dotterkugel sind vom Keim umspannt. Der Kopf wächst nun frei über den Dottersack hervor; die rostral gelegene Mundbucht wird dadurch ventral verlagert. Eine erste Pigmentierung an den Augen und der dorsalen Kopfpattie, sowie auf der dorsalen Dottersackoberfläche tritt in Erscheinung. Rostral vor den Augen differenziert sich rechts und links die Anlage der Haftorgane. Die Linse löst sich gänzlich von der Epidermis ab. Der Embryo nimmt in Schwanz- und Rumpfteil die charakteristische Seitenlage ein. Im stark verbreiterten, ventralen Flossensaum wird der Enddarm sichtbar, dessen noch undifferenzierte caudale Partie zum Rand des Flossensaumes abbiegt.

Stadium J: 55—60 Somiten.

Der Keim umspannt vollständig die Dotterkugel; dabei berührt die Schwanzspitze den Vorderrand der Augen. Die Pigmentierung des Embryo ist stärker geworden und hat auch die Ventralseite des Rumpfes bis zur Schwanzspitze erfasst. Die angelegten Riechgruben gelangen durch das Vorwachsen des Kopfes in rostraler Richtung in eine fronto-ventrale Lage. Das Mittelhirn hat sich stark vergrößert; es wächst über das Rautenhirn und drückt dasselbe in die Tiefe. Die seitlich gelagerten Schlundbogen rücken ebenfalls mehr auf die Ventralseite. Die Rumpfsitenlage hat sich bis ins Nachhirn ausgedehnt. Bis in die Region des 10.—18. Somiten reicht das caudale Ende der Seitenlinienanlage. 7 Somiten beteiligen sich jetzt an der Bildung von Muskelknospen für die Brustflosse.

Stadium K: 66 Somiten.

(Im Durchschnitt kommen 66 Somiten am Rumpf zur Abgliederung. Zuweilen kann ihre Anzahl bis zu 70 ansteigen, doch sind diese abgegliederten Stücke so klein und ihre Abgrenzung zu unsicher, als dass sie mit Sicherheit als Somiten taxiert werden könnten.)

Jetzt reicht das Schwanzende des Embryo bis zum Augenhinterrand bzw. bis zur Brustflosse. Die Brustflosse ist an der Basis

pigmentiert und steht als Palette schräg nach hinten vom Rumpf ab. Die Anlage der Seitenlinie hat sich bis in den 31.—34. Somiten ausgedehnt.

In Gegenüberstellung zu der bei LINDROTH getroffenen Einteilung entsprechen die Stadien

B—K	ungefähr	einem	Entwicklungsgrad	von	33%—58%
F—incl. H	„	„	„	„	58%—75%
J—incl. K	„	„	„	„	75%—100%

wobei der Entwicklungsgrad das Alter der morphologischen Eistadien in p. H. der Entwicklungsdauer bis zum Schlüpfen angibt. Da nach LINDROTH (1946) der Schlüpfmoment gegen Einwirkungen äusserer Faktoren wie Licht, Temperaturschwankungen, Sauerstoffdruckherabsetzung besonders empfindlich ist, kann er nicht als Ausdruck für ein bestimmtes Entwicklungsstadium betrachtet werden. Ein bestimmter Reifegrad (Mindestreife, Schlüpfungsreife nach LINDROTH) und eine gewisse Schwächung der sonst sehr elastischen und widerstandsfähigen Eischale stellen die beiden, für das Schlüpfen erforderlichen Bedingungen dar.

In Tabelle 3 sind die für die einzelnen Serien berechneten Entwicklungsgrade zusammengestellt. Daraus ist ersichtlich, dass innerhalb derselben Serie die Somitenzahl der Individuen bei gleicher Entwicklungsdauer schwankt d.h. dass die Entwicklung einzelner Exemplare unter gleichen Aufzuchtbedingungen und in derselben Zeitdauer weiter fortgeschritten ist als bei anderen. Auch beim Vergleich der Serien untereinander differieren die Entwicklungsgrade in % bei relativ gleicher Somitenzahl beträchtlich. Die Ursache hierfür liegt wohl in der relativen Inkonstanz der Temperatur und der anderen äusseren Faktoren, die den Schlüpftermin beeinflussen. (Als Entwicklungsgrad von 100% galt stets jener Zeitpunkt, an dem die ersten geschlüpften Exemplare zu verzeichnen waren.)

2. Anatomisch-histologische Beschreibung der Stadien A—K (dargestellt ist lediglich das Stadium H, Abb. 11, p. 416)

Stadium A:

Die eigenen Untersuchungen lassen die frühesten Entwicklungsvorgänge ausser acht und setzen erst dort ein, wo das Blastoderm

TABELLE 3. Übersicht über die in den verschiedenen Serien erhaltenen Entwicklungsdaten.

Serie	I			II			III			IV			V			VI		
	E. zt. i. Tg.	S	Eg %	E. zt. i. Tg.	S	Eg %	E. zt. i. Tg.	S	Eg %	E. zt. i. Tg.	S	Eg %	E. zt. i. Tg.	S	Eg %	E. zt. i. Tg.	S	Eg %
E. zt = Entwicklungszeit in Tagen S = Somitenzahl Eg = Entwicklungsgrad in %							4	3	44									
				5	5-10	36	4,5	5-9	50									
	4	13	50				5	16-21	56	4	19-21	50	5	18-20	56	4	10-12	44
							5,5	23-27	61				5,5	28-31	61	5	28-33	56
	5	35	63				6	31-36	67	5	32	63						
							6,5	38-43	73	5,5	38-42	69	6	39-40	67	5,5	36-40	62
							7	45-50	78				6,5	45-48	73			
	6	53-55	75				7,5	53-59	84	6	50-54	75	7	52-59	78	6	58-60	67
Temp.-konstz ± 0,5 in ° C				10	58-62	72	8	58-63	89	7	58-64	88	7,5	62-65	84	7	62-66	78
	7	63-66	88				8,5	62-66	95	8	61-64	100	8	64-69	89	8	65-66	89
	8	64-68	100	14	66-68	100	9	63-68	100				9	62-65	100	9	64-68	100
	+												+			+		
Temp.-inkon- stanz				+						+								
Temp.-Mittel	14,1						12,5			12,1			14,0			13,8		
Schlüpfterm. in Tagesgrd.	127-141						125-138			97-109			126-140			124-138		

den Dotter nahezu umwachsen hat. In dieser Entwicklungsphase erfolgt die Bildung der unteren Schicht — des primären Entoderms — durch Umschlag des ganzen Blastodermrandes (JABLONOWSKI 1899). Sie beginnt an der Stelle, wo später die Embryonalanlage auftritt und dehnt sich rasch über den ganzen Rand aus. Während des Auswachsens der Embryonalanlage in rostraler Richtung breitet sich gleichzeitig das Randmaterial über den Dotter aus und führt schliesslich zu dem Zustand, der zu Stadium B überleitet.

Stadium B (früh): (=Stadium 3,4 JABLONOWSKI)

Der Dotter ist zu $\frac{3}{4}$ seines Umfanges vom Blastoderm umwachsen. Unter der noch ungegliederten Medullarplatte, die eine seichte, mediane Rinne (sillon dorsal, LEREBoullet) aufweist, liegt das zwei-dreischichtige primäre Entoderm, in dem median die Sonderung der Chorda einsetzt. Zu beiden Seiten beginnt eine zweischichtige Mesoderm-lage sich von einer darunterliegenden, einschichtigen Zellage — dem sekundären Entoderm — abzuheben.

Stadium B (spät):

Der Dotter ist zu $\frac{4}{5}$ seines Umfanges vom Blastoderm umwachsen. Die Auffaltung der Medullarplatte bzw. die Umlagerung des Materials aus der transversalen in die dorso-ventrale Richtung ist in vollem Gange. Das Zusammenschieben beschränkt sich nur auf die Sinnesschicht des Ektoderms, über der sich die einzellige Deckschicht glatt hinwegzieht. Im Bereich des Prosencephalons und des Mesencephalons kommt es zu einer echten Faltenbildung (JABLONOWSKI, 1899), deren Spuren aber gegen Ende des Umlagerungsprozesses vollständig verschwinden. Am Schluss resultiert ein kompakter Zellstrang, in dem — wie bei den anderen Teleostern — erst sekundär eine Lichtung auftritt. Die drei Regionen des Pros-, Mes- und Rhombencephalons lassen sich schon deutlich voneinander trennen. Seitlich am Prosencephalon treten die Augenanlagen als Proliferationen in Erscheinung. Die Chorda, die sich bis in die Gegend der KUPFFER'schen Endblase aus dem primären Entoderm differenziert hat, geht an ihrem rostralen wie caudalen Ende unmerklich in das angrenzende Gewebe über. Sie besitzt an ihrem vorderen Ende die Form einer nach oben offenen, u-förmigen, flachen Rinne, gewinnt aber bald einen runden Quer-

schnitt, den sie in ihrem ganzen Verlauf beibehält. Die ersten Myotome sind bereits abgegliedert und zerfallen in die eigentlichen Muskelsegmente und in die Seitenplatten. Letztere sind noch kompakt.

Das sekundäre Entoderm, im allgemeinen eine einschichtige, unter der Chorda und den Mesodermplatten ausgebreitete Zellige, ist im vordersten Kopfbereich vor den Augenanlagen als gesonderte Schicht nicht mehr nachweisbar. Oft ist auch eine Abgrenzung des Ektoderms vom Entomesoderm infolge der zellulären Indifferenz und des dichten Aufeinanderliegens der beiden Blätter praktisch unmöglich. Erst im Bereich der Augenanlagen kommt eine deutliche Sonderung in das sekundäre Entoderm und das ein-zweischichtige Mesoderm zustande.

Im rhombencephalen Gebiet wird letzteres wieder mehrschichtig und kompakter, um anschliessend in die Zellmassen der Rumpfzone überzugehen. Gleichzeitig verdoppelt auch das sekundäre Entoderm in seinen lateralen Bezirken seine einzellige Schicht; diese Verdickung stellt die früheste Differenzierung der Kiemenanlage dar. Caudal median endigt das Darmblatt in einer Ansammlung von Zylinderzellen, die epithelial zu einer Blase angeordnet sind, aber kein Lumen zwischen sich lassen. Diese KUPFFER'sche Endblase, die (nach ZIEGLER, 1902) als frühzeitig hohlgewordener Endteil der Darmanlage aufzufassen und der Endblase des postanal Darmes der Selachier homolog ist (KOPSCH, 1900), verschmilzt lateral und caudal mit dem Mesoderm. Auch die Chorda und die Medullarplatte verlieren ihre Abgrenzung und gehen in das undifferenzierte Material des Randknopfes über.

Stadium C: 5-10 Somiten

Die Zusammenschiebung der Medullaranlage aus der transversalen in die dorsoventrale Richtung hat im Hirnbereich aufgehört, ist aber im Rückenmark zum Teil noch im Gange. In den primären Augenblasen sind die ersten Anzeichen einer Lumenbildung sichtbar geworden. Der Prozess beginnt von dort aus auf das Prosencephalon überzugreifen. Die rostrale Zone des Rückenmarkes ist zur Bildung von Spinalganglien übergegangen.

In der Chorda, die sich vom Mesencephalon bis zur KUPFFER'schen Blase erstreckt, setzt eine Wanderung der Zellkerne zur Peripherie ein. Während die Seitenplatten des caudalen Rumpf-

bereiches noch kompakt sind, hat sich bereits in denen des Kopf- und rostralen Rumpfgebietes Coelom gebildet.

Das Entoderm besteht im allgemeinen immer noch aus einer einschichtigen Zellage, die unter den Seitenplatten sich hinzieht und median — unter der Chorda — zuweilen auch zweischichtig wird. In der vordersten Kopfregion geht das einschichtige Darmepithel keilförmig verdickt in die Sinnesschicht des Ektoderms über. Durch die Homogenität des Zellmaterials ist es jedoch unmöglich, die genaue Abgrenzung der Anteile beider Keimblätter festzulegen. Wahrscheinlich vollzieht sich hier in dieser frühesten Anlage der Mundbucht ihre Vermischung (GRIEB, 1932). Zwischen Prosencephalon und Vorderdarm schiebt sich das lockere Zellmaterial des Mesoderms. Beiderseits des Mesencephalons und des Rhombencephalons, über der Region der Kiemenanlagen hat sich in der Grundschicht der Epidermis eine Ektodermleiste angelegt, deren laterale Partien gegen das Entoderm vorzuwachsen beginnen. Sie liefern den ektodermalen Anteil der Visceralspalten. Aus den medianen Partien, die eine viel stärkere Verdickung aufweisen, entstehen die Ohrplakoden, die aber auf dieser frühesten Stufe noch nicht mit Sicherheit abzugrenzen sind. Gleichzeitig mit dem Beginn der Zelleinwucherung von oben fängt auch das Material der entodermalen Kiemenanlagen an, sich seitlich zusammenzuschieben und bildet — als erstes Anzeichen seiner Auffaltung — einen nach dorsal vorspringenden Kiel. Die oberste Zellage differenziert sich dabei zu hohen Zylinderzellen. In der KUPFFER'schen Endblase ist ein Lumen aufgetreten.

Stadium D: 10—20 Somiten

Der im Innern der primären Augenblasen und des Prosencephalons gebildete Zentralkanal ermöglicht nun die Einstülpung zur sekundären Augenblase, dem Augenbecher. Gleichzeitig verengt sich auch die Verbindung zum Prosencephalon und wird zum Augenstiel. Die Linsenanlage lagert sich sodann dem Augenbecher als ektodermale Verdickung flach an. Die Ohrplakode, die sich über der zweiten Visceralspalte in der Ektodermleiste zu einem ovalen Körper epithelialisiert und abgegrenzt hat, beginnt sich von der Epidermis zu lösen und sich in das darunterliegende Mesoderm zu versenken. Im Innern bereitet sich das Lumen vor. Das Coelom des rechten und linken Kopfgebietes hat sich um ein beträchtliches

Stück erweitert und bildet nunmehr die paarige Anlage der Pericardialhöhle (AUBERT, 1854). Auch LEREBoullet (1862) weist schon darauf hin, dass der Herzbeutel früher als das Herz zur Anlage gelangt. Mit ihrer medianen, verdickten Umbiegungsstelle rücken nun die Seitenplatten zwischen Dotterentoderm und Kiemendarm gegen die Medianlinie vor. Gleichzeitig wandern Herzzellen jederseits zwischen Pericard und Darmblatt ventralwärts, bleiben dabei aber noch in kontinuierlicher Verbindung mit dem Kopfmesoderm. (ZIEGLER, 1887).

Im rostralen Rumpfgebiet hat die Bildung des WOLFF'schen Ganges eingesetzt. Die Übergangsstelle der Splanchno- in die Somatopleura ist stark verdickt und schnürt sich vom übrigen Teil der Seitenplatten ab.

Der Abschnürungsprozess schreitet von vorne nach hinten fort, rostral und caudal aber kommuniziert der WOLFF'sche Gang noch mit dem Coelom (ROSENBERG, 1867). Das sekundäre Entoderm ist im Kopfgebiet hinter den Augenanlagen zur Bildung des Kiemendarmes übergegangen und hat ein erstes und zweites Faltenpaar angelegt, das jederseits durch das Mesoderm des Kopfes hindurchwächst, um sich mit dem Ektoderm zu verbinden. Das erste Faltenpaar ist die Anlage der ersten Visceralspalte, die dem Spritzloch der Selachier homolog ist; die hinter ihr angelegte zweite Visceralspalte wird zur ersten Kiemenspalte.

Im übrigen ist der Kiemendarm zu einem flachen Rohr geschlossen, das in seinem ganzen Verlauf kein Lumen aufweist. Der Prozess der Abhebung des Keimes vom Dotter wird damit eingeleitet. Er hat bereits auf das angrenzende Rumpfgebiet übergegriffen, dessen rostraler Darmabschnitt ebenfalls zu einem kompakten Rohr zusammengeschoben ist.

Die Somiten folgen der Bewegung und rücken seitlich nach. Caudalwärts wird die Darmfalte flacher und verstreicht. Lediglich die Hypochorda gelangt zur Abschnürung; sie ist eine transitorische Bildung mancher Teleostier und geht aus den medianen Zellen des Entoderms hervor, die bei der Auffaltung den Scheitel der Darmfalte bilden und abgegliedert werden, ehe das Darmrohr sich vollends schliesst. Als dünner Strang — aus 3-4 Zellen im Querschnitt bestehend — wird sie der ventralen Kante der Chorda dicht angelagert.

Stadium E: 25—30 Somiten

Die Bildung des Zentralkanal hat sich bis ins Rhombencephalon ausgedehnt und schreitet caudalwärts weiter. In den Seitenwänden der Gehirnteile, hauptsächlich an deren innerer, dem Zentralkanal zugewandten Peripherie, treten zahlreiche Mitosen auf. Sie führen schliesslich zur Bildung der Rautengrube, die in Form kleiner, seitlicher Ausbuchtungen am Rhombencephalon sichtbar wird. Spinalganglien werden noch immer abgegliedert.

Durch die Tendenz des Prosencephalons, rostral auszuwachsen, erscheinen jetzt die Augenbecher caudal verlagert und die Augens tiele von ihrem Ursprungsort nach hinten abgedrängt. Der Unterschied in der Wandung der Augenblase, der sich bereits in Stadium D andeutete, manifestiert sich nun schärfer, indem sich die proximale Wand verdünnt, die distale an Mächtigkeit stark zunimmt. Aus ihr geht später die Retina hervor. Die Linse wuchert knospenartig in die Tiefe des Augenbeckers, ist aber noch auf breiter Basis mit der Grundschieht des Ektoderms in Verbindung, aus der sie hervorgegangen ist.

Rostral, im Winkel zwischen Prosencephalon und Augenbecher hat sich die Sinnesschicht des Ektoderms zur Riechplakode verdickt. Auch hier zieht die Deckschicht wie bei allen anderen ektodermalen Bildungen ohne Beteiligung über die Anlage hinweg. Morphologisch ohne Bedeutung, ist sie lediglich als Schutzhülle für den im Wasser sich entwickelnden Embryo aufzufassen (FROLIÉP, 1906; PETER, 1947).

Die Ohranlage höhlt sich zum Bläschen. Die Pericardplatten sind ventro-median nahe zusammengedrückt. Ihr einschichtig dünnes Epithel verdickt sich an der bereits verstärkten ventro-medianen Kante noch mehr. Die zwischen und unter den Pericardplatten liegenden Herzzellen sondern sich zu zartem Endothel und bereiten den Herzschnlauch vor.

Während sich in der vordersten Rumpfregeion der Vornierengang vom Coelom abzutrennen beginnt, verdicken sich die lateralen Bezirke der Somatopleura in dieser Region sehr stark und formen sich zu einem Epithel hoher Zylinderzellen um. Sie stellen die früheste Differenzierung der Brustflosse, das sogenannte primäre Basale, dar. Direkt über dieser Anlage zieht die Ektodermleiste des Kopfgebietes weiter caudalwärts und wird zum Bildungsort

der Seitenlinie. Die Chordazellen beginnen sich zu vakuolisieren und zu typischen Blaszellen umzuformen. Bis kurz vor die KUPFFER'sche Endblase reicht die vom Entoderm abgeschnürte Hypochorda. Der Kiemendarm ist im Bereich des Ohrbläschens vom Dotter abgetrennt. Die Verbindung der Darmfalten mit der Ektodermleiste ist hergestellt und somit die erste und zweite Visceralspalte definitiv angelegt. Während die Wandung der ersten Spalte aus einschichtigem, kubischen Epithel besteht, haben sich die Zellen der Darmfalte, die die Wandung der zweiten Spalte bilden, zu hohen, fast spindelförmigen Zylinderzellen umgeformt. Sie reihen sich in kontinuierlicher Folge an die Zellen der Ektodermleiste und lassen keinerlei Abgrenzung mehr gegen sie erkennen. Auch hier gilt wahrscheinlich dasselbe, was schon für die Bildung der Mundbucht gesagt wurde (S. 377), dass bereits beim Kontakt des Ektoderms mit dem entodermalen Anteil eine Vermischung beider Elemente eintritt, die die Entstehung von ektodermalen Bildungen in der Mundhöhle (wie Zähne, Sinnesknospen) erklären würde (GRIEB, 1932). Auf rein histologischem Wege ist diese Vermischung jedoch nicht nachweisbar. Schon jetzt sei im Anschluss daran darauf hingewiesen, dass das Epithel der Anlagen der Visceralspalten über eine längere Zeit noch eindeutig einschichtig bleibt und erst kurz vor dem Auftreten eines Lumens eine doppelte Zellage ausgebildet wird.

Um die Lösung der Frage der Keimblattzugehörigkeit der Kiemen haben sich schon zahlreiche Autoren bemüht (GREIL 1906, H. MARCUS 1908, EKMANN 1913, E. MARCUS 1930, 31, 33, GERHARDT 1932, REISINGER 1933, LIEBERKIND 1937). Da es nicht Aufgabe vorliegender Arbeit ist, die diesbezüglichen Streitfragen eingehend zu erörtern, sei hier nur noch kurz vermerkt, dass E. MARCUS auf Grund experimenteller und mikroskopischer Untersuchungen bei Amphibien und Selachiern eine Umscheidung des entodermalen Vorderdarmes durch die vorwachsende, ektodermale Sinnesschicht konstatiert, die speziell bei den Amphibien auch die Visceraltaschen umgeben und sich bis zum Oesophagus ausdehnen soll. Seine Ergebnisse werden von REISINGER (1933) abgelehnt, der — ebenfalls bei den Amphibien — eine scharfe orale Ektoderm-Entodermgrenze findet, die sich bei Anuren ventral bis zum Foramen caecum, dorsal bis zur Gaumenfalte verschieben soll. Die Zweischichtigkeit des Vorderdarmepithels beruht nach REI-

SINGER nicht auf dem Vorwachsen einer ektodermalen, „visceralen Sinnesschicht“ (E. MARCUS), sondern lediglich auf einer Umordnung seiner entodermalen Zellen unter spärlichen Teilungen, ein Ergebnis, das durch Vitalfärbungs- und Transplantationsversuche gestützt wird. Doch nimmt er eine ekto-entodermale Vermischung des Vorderdarmepithels durch „Mesenchymzellen“ an, die diffus oder lokalisiert in das ursprünglich rein entodermale Epithel einwandern. Er konnte deren Zugehörigkeit zu dem den Neuralleisten entstammenden Mesektoderm durch histologische und experimentelle Befunde begründen.

Direkt hinter dem Kiemendarm kommt die Leber als kompakte, ventrale Wucherung des Darmepithels zur Anlage (LEREBoullet 1862) und markiert im Sinne MAURERS (1906) die Grenze zwischen Rumpf- und Vorderdarm. Die ganze Vorderdarmanlage, wie auch der Teil des Rumpfdarmes, der sich zu einem Rohr zusammengeschoben hat, entbehren eines Lumens. Am caudalen Ende ist die KUPFFER'sche Blase noch vorhanden. Intermediärzellen, von ZIEGLER (1887) als gefäss- und blutbildende Zellen auch für den Hecht nachgewiesen, schieben sich zwischen Darmanlage und Hypochorda. (OELLACHER, 1873, bezeichnete als intermediäre Zellmasse einen undifferenzierten Zellstreifen zwischen Ursegment und Seitenplatten, der ausser beim Hecht auch noch beim Lachs und einigen anderen Knochenfischen vorkommt. Da nach ZIEGLER, 1902, nichts anderes als ein Gefäss daraus hervorgeht, braucht ihr bei vergleichender Betrachtung der Differentiation der Keimblätter keine grosse Bedeutung beigelegt zu werden.)

Stadium F: 30—35 Somiten.

Am Dach des Prosencephalons hat sich die unpaare Epiphyse abgegliedert. Gleichzeitig erscheint als zellige Verdickung des Munddaches unter dem Infundibulum die Anlage der Hypophyse. Sie liegt deutlich eine Strecke weit h i n t e r der als Rachenhaut bezeichneten Übergangsstelle des Darmentoderms in die ektodermale Sinnesschicht der Epidermis (s. Stad. H, Abb. 11). Dies würde im Gegensatz stehen zu den Befunden bei anderen Teleostiern. HALLER (1896), GÖPPERT (1906) geben für die Forelle eine ekto-dermale Entstehung dieses Organes an, indem sie es aus einer v o r der Rachenhaut gelegenen Verdickung des Ektoderms hervorgehen

lassen. Auch bei Selachiern und Ganoiden entsteht die Hypophyse ektodermal.

Es ist in unserem Falle jedoch unmöglich, eine absolute Entscheidung über die Zugehörigkeit zu einem bestimmten Keimblatt zu treffen, da ja keine sichere Abgrenzung zwischen ekto- und entodermalen Anteil besteht. Allein aus der Lagebeziehung geschlossen, müsste man eine entodermale Entstehung annehmen.

Die Pericardialplatten, die sich median aneinandergelegt haben und die primitive Herzanlage zwischen sich fassen, verschmelzen rostral und caudal vom Herzen zu einer einheitlichen Pericardialhöhle. Dadurch wird das Epithel rings um die Herzanlage vom übrigen Pericard getrennt und bildet eine selbständige Wandung, die später zur eigentlichen Muskelschicht des Herzens wird. Innerhalb dieser Umgrenzung haben sich die Herzzellen zu einem zarten, schräg von links ventral nach rechts dorsal aufsteigenden Endothelschlauch geordnet, dessen Wandungen noch dicht aufeinanderliegen. (Solider Herzconus, LEREBoullet 1854, 1862; Aubert 1854.)

Die Intermediärzellen des vorderen Rumpfmesoderms sind zur Bildung der Aorta und der beiden Cardinalvenen übergegangen. Aus den restlichen, nicht zum Bau der Endothelwände herangezogenen Zellen entstehen Blutkörperchen. Diese entstammen also nicht, wie Gensch (1882) irrtümlicherweise angab, aus dem Parablast (Dotterentoderm), aus dem sie durch Teilung und Sprossung hervorgehen sollten, sondern aus dem Mesoderm. An dem immer noch kompakten Vorderdarm sind drei Visceralspalten angelegt. Die sonst einschichtige, aus kubischem Epithel bestehende Darmwand ist besonders bei der zweiten und dritten Anlage stark verdickt und in reger Zellvermehrung begriffen. Dennoch bleiben die Zellen deutlich epithelial geordnet und streng vom umgebenden Mesoderm gesondert und gehen in kontinuierlicher Folge ohne Abgrenzung in die Grundschrift des Ektoderms über.

Hinter der kompakten Leberanlage bildet die Darmanlage ein rundes Rohr ohne Lumen, das im caudalen Rumpfgebiet in eine offene, steil aufsteigende Falte übergeht. Beim Übergang in den frei über den Dotter vorwachsenden Schwanzteil gewinnt sie eine breite Basis und schnürt dorso-median die Hypochorda ab. Von der KUPFFER'schen Endblase ist keine Spur mehr zu finden. Im Gegensatz zum Rumpfgebiet wird das Entoderm im freien Schwanzteil als kompakter, nicht epithelialisierter Strang angelegt. Unter

ihm liegt eine lockere, indifferente Zellmasse, die mit ihren lateralen Enden an die ventralen Kanten der Somiten angrenzt. Sie gliedert sich im weiteren Verlauf der Entwicklung lateral in die beiden Urnierengänge, median in mesenchymatisches Bindegewebe, das den Enddarm umgibt und die spätere Muskelschicht liefert. In der Schwanzspitze vereinigt sich zuerst das Entoderm, dann das Mesoderm der Chorda und Somiten mit der indifferenten Zellmasse des Schwanzes, mit der auch zuletzt das Material des Rückenmarkes verschmilzt.

Stadium G: 35—45 Somiten.

Während die Linse noch mit einem ganz dünnen Stiel am Ektoderm hängt, löst sich die Ohranlage vollends von ihrem Ursprungsort los. Das Innere der Chorda ist von grossen Blaszellen erfüllt, deren Kerne an die Peripherie gedrängt werden.

Die Seitenplatten legen sich im Rumpfgebiet lateral der Darmwand an, um sie zu umschneiden. Doch ist es bis jetzt weder zu einer dorsalen noch zu einer ventralen Vereinigung gekommen. Hinter dem dritten Urwirbel erscheint das blinde Ende der Vornierenkammer, die sich caudalwärts über den vierten und fünften Somiten erstreckt. Mit der lateralen Ausbreitung der Seitenplatten über die Dottersackoberfläche setzt auch eine Einwanderung zahlreicher mesodermaler Zellen ein, die sich über die ganze Oberfläche zwischen Dotterentoblast und Epidermis lose zerstreuen. Sie entstammen (nach ZIEGLER 1887) den unterhalb der visceralen Pericardialplatten gelegenen, restlichen Mesodermzellen, die zur Bildung des Herzendothels nicht mehr herangezogen wurden. Nach ZIEGLER besteht zwischen den ersten Blutkörperchen, die sich von den Intermediärzellen herleiten, und diesen Wanderzellen prinzipiell kein Unterschied. Sie sollen sich zum grössten Teil zu Pigmentzellen umwandeln.

Von der ventro-lateralen Kante der ersten bis fünften Somiten ziehen fünf Muskelknospen zur Anlage des primären Basale der Brustflosse (S. 379), während eine sechste Knospe sich differenziert.

An der frei über den Dotter hervorwachsenden Schwanzspitze wird durch das Aneinanderlegen der Epidermis zu einer geringen Epithelleiste die Anlage des protocerken Flossensaumes in der dorsalen und ventralen Medianlinie eingeleitet.

Im vorderen Rumpfdarm wächst die Leber nach der linken Seite

zu aus. Ihrem caudalen Ende gegenüber legt sich in Form einer massiven Wucherung des Darmepithels der dorsale Anteil des Pancreas an. Hinter der Leber-Pancreaszone treten in dem soliden Darmrohr, dessen Wandung aus einschichtigem Epithel kubischer Zellen aufgebaut ist, spaltförmige Lumina auf. Im mittleren Rumpfabschnitt flacht das Rohr zuerst ventral, schliesslich auch dorsal ab und verliert sein Lumen vollständig. Von der Leberanlage bis zur caudalen Grenze des Dottersacks liegt der Darm dem Dotter noch unmittelbar auf. Er zieht — im Bereich des freien Schwanzteils — als kompakter, runder Zellstrang dahin, um am caudalen Ende in die indifferente Zellmasse einzumünden, in der auch Mesoderm und Neuralrohr miteinander verschmelzen. Aus dem lockeren Gewebe, das im vorhergehenden Stadium ventral vom Schwanzdarm anzutreffen war, haben sich kompakte Urnierengänge abgegliedert. Kurz hinter dem caudalen Ende des Dottersacks zweigt ventral ein undeutlicher Zellstrang vom Schwanzdarm ab und zieht median zwischen den beiden Urnierengängen nach hinten, verdickt sich dort, wo er zur Epidermis der ventralen Körperseite abbiegt, relativ stark und bildet die kompakte Anlage des Afters. Die Bildung des Enddarmes ist eingeleitet. Auf der Strecke der doppelten Darmanlage weist der dorsal liegende Schwanzdarm schon Anzeichen einer bald einsetzenden Reduktion auf. Er ist hier — im Gegensatz zu seinem caudalen Verlauf — ganz schwach ausgebildet.

Stadium H: 45—55 Somiten (vgl. H, Abb. 11, p. 416).

Die Linse hat sich nun gänzlich von der Epidermis abgelöst und spaltet sich innerlich in Faser- und Epithelteil. Rostral vor den Augen legen sich beidseitig die Felder der Haftorgane an. KEHRLI (1934) beschreibt sie bei frisch geschlüpften Exemplaren kurz als eine paarige Verdickung der Epidermis, die sich aus grossen, ovalen Zellen mit kleinem, zentralem Kern zusammensetzt und zottenartige Falten bildet. Im Bereich der Riechgruben sind beide Anlagen median voneinander getrennt, während sie sich caudalwärts berühren. Aus der Darstellung von SCHINDLER (1935) geht auch nicht eindeutig hervor, welche Schicht zur Bildung der Drüsenzzone herangezogen wird. Er betrachtet wie KEHRLI die gesamte Epidermis als Bildungsort der Haftorgane, an deren Aufbau drei verschiedene Zellarten sich beteiligen sollen: zylinder- bis

kolbenförmige Zellen, becherförmige Zellen mit Körnchenmasse — prall mit Schleim gefüllt, bei denen es unentschieden bleibt, ob sie eine besondere Zellart darstellen oder Zellen sind, deren Turgor verlorengegangen ist, und schliesslich abgerundete, nur mit Körnchenmasse gefüllte Zellen, die als abgestorben betrachtet werden.

Bei genauerer Untersuchung erkennt man jedoch, dass sich nur die Deckschicht der Epidermis zu einem einfachen, sezernierenden Epithel differenziert und die Grundsicht an dieser Anlage unbeteteiligt bleibt, ein Bildungstyp, den JONES (cit. nach ILG, 1952) nur für Anuren zutreffend hält, während er für die Teleostier die untere, ektodermale Schicht als Bildungsort der Haftorgane annimmt. Durch unseren Befund erhält die von LIEBERKIND (1937) vertretene Ansicht, dass die Anamnierhaftorgane konvergente Bildungen polyphyletischer Herkunft seien, eine Stütze.

Bei voller Ausbildung dieser paarigen Haftorgane (s. Abb. 29, p. 438) setzt sich das Epithel, welches die Zone der Haftsekretbildung überzieht, fast ausschliesslich aus kolbenförmigen Zylinderzellen merokriner Natur zusammen; diese Zellen bringen offensichtlich das Haftsekret hervor, welches sich mit Mucicarmin nicht, mit Mallory intensiv blau färbt (SCHINDLER 1935).

Das abgegebene Haftsekret legt sich als eine sehr zähe, amorphe, in fixiertem Zustand fasrige Masse über die Drüsenpolster und lässt sich zu einem langen Sekretfaden ausziehen, wie auf Abb. 7, p. 396, ersichtlich ist. Die Fähigkeit, Haftsekret zu bilden, dehnt sich auch auf die Zwischenzone zwischen den beiden Polstern aus. Hier sind die Zellen der obersten Epidermisschicht bereits von kubischem Format, stellen aber doch noch den gleichen Zelltypus dar, da sie durch einen kolben- bis kuppenförmigen Aufsatz ausgezeichnet sind, der Sekretstoff abgibt. Zwischen diesen dominierenden, kolbenförmigen bis kubischen Zylinderzellen treten relativ selten, besonders an den lateralen Rändern der Haftdrüsenpolster auch schleimbildende, mit Mucicarmin anfärbbare Becherzellen auf, die — im Gegensatz zu den Zylinderzellen — eine Oeffnung nach aussen aufweisen. Sie sind mit den typischen Becherzellen der normalen Epidermis identisch. Unregelmässig zerstreut und relativ selten treten daneben noch kleinere und grössere, kugelige Vakuolen im Gewebe der Haftdrüsen auf. Sie können oft auch fehlen. Nach Bau, Inhalt und Färbung gleichen sie ganz jenen dotterhaltigen Vakuolen, die schon in den frühesten, embryonalen Stadien im ganzen Keim

zerstreut sind und besonders an Stellen intensiven Wachstums und Orten der Neubildung angehäuft erscheinen (so z. B. im Dotterentoderm unter der Wachstumszone des Schwanzes). Die Arbeit von ILG (1952) fügt zu den Befunden SCHINDLERS keine neuen Ergebnisse über den Bau und die Entstehung des Haftorganes bei *Esox lucius* hinzu. Sie deutet darauf hin, dass — im Gegensatz zu den Haftorganen bei adulten Fischen — diejenigen der Embryonen alle Drüsencharakter haben, in frühen Stadien funktionstüchtig sind und im Lauf der Entwicklung atrophieren.

Am Boden der Ohrblase hat sich rostral-median der erste Otolith gebildet (LEREBoullet 1862). Die Zellen der Riechplakode differenzieren sich zu Sinneszellen und ordnen sich zu einer kleinen Grube an, über deren Vertiefung die noch intakte Deckschicht der Epidermis hinwegzieht. Die Nervenverbindung mit dem Vorderhirn ist hergestellt. Die Seitenplatten vereinigen sich dorsal und ventral hinter der Leberanlage und schnüren den Darm vom Dotter ab. Die Leber bleibt am längsten in unmittelbarem Kontakt mit dem Dottersack, da sie die Aufgabe seiner Resorption übernimmt, sobald sie den dafür notwendigen Differenzierungsgrad erreicht hat. (PORTMANN und METZNER 1929.)

In den Somiten setzt die Differenzierung der Muskelfibrillen ein. Die Wandungen der vier angelegten Visceralspalten bestehen aus einschichtig-kubischem Epithel und liegen dicht aufeinander. Ein bis zur caudalen Dottergrenze durchgängiges Lumen tritt erst im Rumpfdarm auf, das in der Gegend der Leberanlage am weitesten ausgebildet ist, caudalwärts sich verjüngt und im letzten Darmabschnitt schliesslich schwindet. Die charakteristische Torsion des rostralen Rumpfdarmes um 90° hat eingesetzt und ist bereits soweit fortgeschritten, dass die ventral angelegte Leber von links, der dorsal entstandene Pancreas von rechts in den Darm münden. Die Achsendrehung des Darmrohres erfolgt also — wenn die Rostralseite des Schnittes gegen den Beschauer gerichtet ist — von links nach rechts, d. h. im entgegengesetzten Sinne der Drehung des Uhrzeigers. In der Ontogenese nur kurze Zeit nachweisbar, stellt sie eine letzte Spur der Spiraldrehung dar, die sich von den Selachiern an aufwärts bis zu den Säugetieren konstant festlegen lässt (ANDERS 1925).

Nach ANDERS ist stets nur das Prinzip der Darmdrehung von rechts nach links (also im Sinne der Drehung des Uhrzeigers) in

der ganzen Wirbeltierreihe zu verfolgen, von dem allein der Befund bei den Reptilien eine Ausnahme machen würde (nach JANOSIK und BRACHET, cit. nach MAURER im HERTWIG'schen Handbuch, 2. Bd., 1. T., p. 204). Hier soll die Achsendrehung wie beim Hecht von links nach rechts erfolgen. Da selbst bei den Knochenfischen (Salmoniden) eine Torsion nach dem allgemeinen Prinzip (von rechts nach links) beobachtet wurde (GÖPPERT 1893), würde der Befund bei *Esox lucius* wie bei den Reptilien von allen Tierklassen abweichen.

Der Enddarm durchmisst ungefähr die halbe Länge des freien Schwanzteiles, biegt dann ventralwärts ab und erreicht als kompaktes, verdicktes Endstück den Rand des Flossensaumes. Im äussersten, distalen Abschnitt dieser Anlage tritt ein geringes Lumen auf, das die nur kurze Zeit persistierende Kloakenhöhle repräsentiert. Die in ihrer caudalen Region zwar epithelialisierten, aber kein Lumen aufweisenden Urnierengänge ziehen eng dem Darm entlang, biegen ebenfalls ventralwärts ab und legen sich rechts und links dem Endstück des Darmes an der Stelle an, wo das Lumen auftritt. Kurz zuvor gewinnen sie selbst eine geringe, spaltförmige Lichtung, werden aber an ihrer Einmündungsstelle in die Kloake wieder kompakt. Hinter der Anlage des Afters zieht der Schwanzdarm weiter, um sich in der indifferenten Zellmasse der Schwanzspitze zu verlieren. Seine Resorption hat im rostralen Abschnitt begonnen und setzt sich nach hinten fort.

Stadium J: 55—60 Somiten.

Das Zylinderepithel der Haftorgane beginnt sich über der einförmigen Grundschicht in Falten aufzuwerfen. Der distale Teil der Zellen hebt sich durch intensivere Färbung vom basal gelagerten Kern und der Grundschicht der Epidermis deutlich ab.

Über den mesenchymatischen Hügeln der Brustflossenanlage beginnt sich die Epidermis in ihrer Gesamtheit zu einer Epithelfalte zusammenzuschieben, ähnlich wie bei der Bildung des Flossensaumes.

Im dorsalen Mesenterium des vorderen und mittleren Darmabschnittes fallen die durch besondere Grösse ausgezeichneten Urkeimzellen auf, die sich an der Stelle der späteren Gonaden in zwei Längsreihen anzuordnen beginnen. Die fünf Paar Visceralspalten, die im Kiemendarm nun angelegt sind, weisen mit Aus-

nahme der letzten, noch in intensivem Wachstum begriffenen Anlage, ein eindeutig einschichtiges Epithel auf. Im Kopfdarm ist noch kein Lumen zu erkennen.

Durch die Erweiterung des in Stadium H angelegten Spaltes ist die Leber in ihrem rostralen Abschnitt zu einem Divertikel des Darmes geworden, das — auf der linken Körperseite liegend — sich stark nach oben krümmt. Sie beginnt sich bereits von vorne her vom Darm abzuschnüren. In ihrem caudalen Teil wird sie zu einer mehr oder weniger kompakten, sich verzweigenden Anlage, die vereinzelt kleine, spaltförmige Lumina besitzt.

An der dorsalen, jetzt rechts liegenden Darmseite zeigt sich in Höhe der rostralen Leberanlage eine kleine, unscheinbare Epithelknospe, die die früheste, kompakte Anlage der Schwimmblase darstellt. Ebenso unscheinbar sind zwei Wucherungen der ventralen, nach links verlagerten Darmwand, die unmittelbar hinter dem caudalen Ende der Leber in Erscheinung treten. Es sind die ersten Spuren der paarigen, ventralen Pancreasanlage, die von den Teleostiern an aufwärts in der Ontogenese aller Wirbeltiere feststellbar ist (ANDERS 1925). Sie tritt jedoch zu einer Zeit auf, da sich die Leber noch in einem sehr frühen Entwicklungsstadium befindet und noch kein eigentlicher Ausführungsgang existiert. Sie nimmt also nicht wie bei der Forelle (GÖPPERT 1893) ihren Ursprung aus dem durch Abschnürung entstandenen primären Lebergang, der dadurch zum Ductus choledochus wird. Ihre, dem caudalen Lebergebiet direkt benachbarte, aber von diesem gesonderte Ursprungsstelle liegt der Mündungsstelle des Pancreas dorsalis gegenüber.

Zu dieser Zeit beginnt das Epithel des Rumpfdarmes mehrschichtig zu werden. Das hinter der Kiemenregion auftretende Lumen erweitert sich in der Leber-Pancreaszone, um caudalwärts wieder zu verstreichen. Im mittleren Darmabschnitt ist kein Lumen mehr zu finden. Die immer noch kompakte, caudale Darmanlage geht in die dorsale, ebenfalls kompakte Anlage der Kloake über. Deren distale Partie, die bereits in Stadium H ein kleines Lumen aufwies, hat sich zu einer Röhre verlängert, deren Ende der Epidermis des Flossensaumes direkt auflagert. Das Epithel der Röhre ist einschichtig. Die beiden Urnierengänge, die im caudalen Abschnitt ihr porenförmiges Lumen ebenfalls eingebüsst haben, verschmelzen mit dem Gewebe der dorsalen, kompakten Kloaken-

region. Kurz vor ihrer Einmündung tritt nochmals ein äusserst schmales schlitzförmiges Lumen auf, das aber noch vor dem Eintritt in die Kloake wieder verschwindet.

Stadium K (früh): 66 Somiten.

Neben dem rostralen, jetzt mehr an die Aussenwand der Ohrblase verlagerten Otolithen wird ein zweiter Otolith bemerkbar, der mehr caudal der Innenwand angelagert ist. Die Hypophyse persistiert als scheibenförmige Verdickung des dorsalen Mundepithels, dem Boden des Infundibulums dicht anliegend.

Die Brustflosse zeigt median über der mesodermalen Anlage eine deutliche Epithelfalte.

In den beiden dorsal zusammengedrückten Vornierenkammern setzt jederseits durch Vorwölben der medianen Wandung die Glomerulusbildung ein. Die Muskulatur der Somiten zeigt deutliche Querstreifung.

Am Kiemendarm tritt das sechste Paar von Visceralspalten in Erscheinung. Caudal hinter der Hypophysenanlage beginnt die Verdoppelung der einschichtigen, dicht aufeinanderliegenden Wandungen des Darmepithels durch Abgabe von Zellen nach innen. Der im medianen Teil des Kiemendarmes einsetzende Prozess schreitet beiderseits der Innenwand der Kiemenbogen entlang caudalwärts und breitet sich von diesen Einzugsgebieten lateralwärts auf die angrenzenden Regionen aus. Erst dort, wo die ins Innere abgegebenen Zellen sich allmählich zu einem Epithel ordnen, tritt ein Lumen auf. Die noch längere Zeit einschichtig und verschlossen bleibenden, distalen Partien der Visceralspalten und der Mundbucht beweisen eindeutig, dass diese Verdoppelung nicht durch ein Einwandern der ektodermalen Grundschiebt verursacht wird, sondern einen von innen nach aussen fortschreitenden Prozess darstellt.

Der Rumpfdarm beschreibt in der Gegend des hepato-pancreatischen Ringes eine leichte, durch das Wachstum der Anhangsdrüsen bedingte, s-förmige Kurve, indem er median ins Rumpfgebiet einziehend durch die Leber zuerst nach rechts abgedrängt wird, um sich schliesslich in der Zone des *Pancreas dorsalis* auf die linke Körperseite zu verlagern.

Die Leber hat sich rostral vollständig vom Rumpf abgetrennt und gewinnt erst wieder kurz vor Abgang der Schwimmblasen-

anlage eine offene Verbindung mit dem Darmlumen. Das unmittelbar hinter dem caudalen Ende der Leberanlage entspringende *Pancreas ventralis* hat sich zu zwei stummelförmigen Zapfen verlängert, von denen der links gelagerte infolge der Torsion des Darmes nach dorsal, der rechts angelegte nach ventral sich erstreckt. Annähernd auf gleicher Höhe, um ein geringes caudalwärts verschoben, mündet das kompakte *Pancreas dorsalis* rechts in den Darm. Die Schwimmblasenanlage ist zu einem kleinen Darmdivertikel ausgewachsen. Während das Epithel des rostralen Rumpfdarmes noch einschichtig bleibt, setzt hinter dem *Pancreas dorsalis* eine bedeutende Zellvermehrung ein, die die regelmässige Schichtung des kubischen Epithels bis hinter die caudale Dottergrenze vollständig aufhebt. Im Schwanz zieht der Darm als einschichtiges Epithelrohr mit geringem Lumen bis zur Kloake, biegt dann ventralwärts ein und endet blind auf halber Höhe der Kloakenanlage. Der caudal angrenzende, kompakte proximale Teil der Kloake mit der paarigen Einmündungsstelle der Harnleiter beginnt sich vom blinden Ende des Darmes abzuschneiden. Das im Innern sich vorbereitende, spaltförmige Lumen breitet sich einerseits auf die noch verschlossenen Ureter, andererseits ventral aus, um mit dem schon bestehenden Lumen der distalen, röhrenförmig ausgezogenen Kloakenanlage in Verbindung zu treten.

Stadium K (spät):

In der Brustflossenanlage differenziert sich median ein Knorpelstab, dessen verbreiterte Basis die Anlage der Schultergürtelhälfte darstellt, während der distale Teil die Anlage für das Skelett der Brustflosse bildet (SWIRSKI 1880).

Das Zylinderepithel der Haftorgane hat sich zu hohen Faltenzügen aufgeworfen. (Abb. 28, p. 437.) Während sich in der Epidermis zerstreut über die gesamte Körperoberfläche die ersten Becherzellen differenzieren, findet man von den einzelligen Hautdrüsen, die bei *Salmo irideus* und *Carassius auratus* die Eischale fermentativ abbauen (WINTREBERT 1912), keine Spur. Sie scheinen beim Hecht zu fehlen.

Der primitive Herzschlauch zerfällt durch eine Einschnürung deutlich in ein Atrium und einen Ventrikel, der sich bei seinem Eintritt in den Kopf zu einem kurzen Truncus arteriosus verengt. (LEREBoullet 1862.)

Im dorsalen Mesenterium des Darmes finden sich Urkeimzellen bis in die Analregion. Während die Glomerulusbildung der Vornierenkammern weiter fortschreitet, legen sich die Ureter in ihrem rostralen Abschnitt in Windungen.

Am Kiemendarm greift die Verdoppelung des Epithels und die damit einhergehende Lumenbildung weiter um sich. Indessen wächst der Hyoidbogen zum Operkel aus.

Hinter der Einmündungsstelle der Schwimmblase in den vorderen Rumpfdarm steht die Leber noch in weit offener Darmverbindung, erfährt aber in ihrem caudalsten Teil, ca 14 μ von der ventralen Pancreasanlage entfernt, eine Abschnürung vom Darm, die sich in rostraler Richtung fortsetzt. Die durch die Torsion des Darmes auf die linke Körperseite verlagerte, rechte Anlage des Pancreas ventralis wächst unter dem Darmrohr hindurch und verbindet sich mit der dorsalen Pancreasanlage. Letztere jedoch hat ihren Kontakt mit dem Darmepithel nicht restlos aufgegeben. Es besteht noch eine dünne, kompakte Zellbrücke zum Ursprungs-ort.

Das Darmepithel — abgesehen von seiner rostralen Zone — hat sich in seinem ganzen Verlauf beträchtlich verdickt und besteht aus zwei bis drei unregelmässig geschichteten Zellagen. Eine dünne, ein bis zwei Zellschichten umfassende mesenchymatische Hülle umgibt den ganzen Darm, der bis zu seinem caudalen Ende ein stark erweitertes Lumen aufweist. Aus der Vereinigung der Lumina des proximalen und distalen Kloakenabschnittes ist die primitive Harnblase entstanden, die mit den ebenfalls vollständig durchgängig gewordenen Uretern in offener Verbindung steht.

Die Feinheit des porenförmigen Lumens der an den Rand des Flossensaumes ziehenden Harnröhre lässt auf diesem frühen Stadium keine sichere Entscheidung zu, ob bereits ein Durchbruch nach aussen erfolgt ist. Doch ist mit Sicherheit zu sagen, dass der ektodermale Anteil an der Bildung des Porus sehr gering ist.

LEREBOULLET (1862) hat das Auftreten der Harnblase hinter dem Enddarm beobachtet und beschreibt sie als terminale Erweiterung des Ureters.

ROSENBERG (1867) konnte infolge technischer Schwierigkeiten (gekrümmtes Hinterende des Embryo) die caudale Abschnürung der Urnierengänge und die erste Anlage der Kloake nicht verfolgen. Er erwähnt aber in einem etwas späteren Stadium das Vorhanden-

sein einer Harnblase, die er sich aus dem Zusammenfließen der caudalen Ureter entstanden denkt. Sie weist bereits eine Mündung nach aussen auf, doch ist ihm der Durchbruch selbst unbekannt geblieben.

Im caudalsten Abschnitt der Schwanzes persistiert der letzte Rest des Schwanzdarmes.

3. *Das Verhalten des Embryo.*

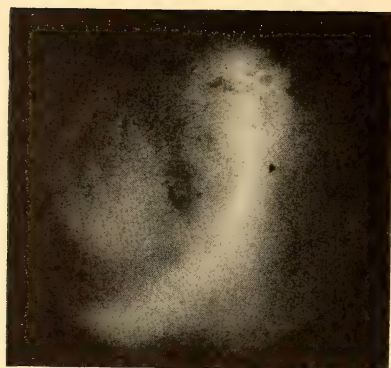
Die ersten Bewegungen des Hechteies werden durch Rotationsbewegungen des Dotters ausgelöst, die zwei bis drei Stunden nach der Befruchtung zum ersten Mal auftreten und für die kontraktile Eigenschaften des Dotters verantwortlich zu machen sind. (REICHERT 1857, LINDROTH 1946.)

Die durch die Rotationsbewegungen ausgelösten Formveränderungen sind nach LINDROTH — wenngleich auch schwächer — auch an unbefruchteten Eiern zu beobachten. Bis zum Stadium H lassen sich die Kontraktionserscheinungen verfolgen; sie haben aber bis dahin an Intensität so abgenommen, dass sie kaum mehr nachweisbar sind. Offenbar hemmt die Reibung zwischen Eischale und Embryo die Rotationsbewegungen, die zudem von den nun einsetzenden Muskelbewegungen überlagert werden (LINDROTH 1946). Diese bereits in Stadium G auftretenden Zuckungen des Rumpfes erscheinen zuerst in grossen Intervallen (2—3/Viertelstunde), werden aber mit fortschreitender Entwicklung stärker und häufiger. Die ersten wahrnehmbaren Herzschläge fallen in eine Zeit, in der vorerst nur ein solider Herzconus vorhanden ist (Stadium F). Schon LEREBoullet (1862) und Aubert (1856) beobachteten, dass die Herzkontraktionen bereits vor dem Hohlwerden und vor Eintritt der Blutzirkulation auftreten.

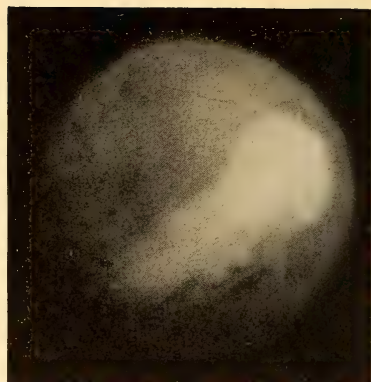
In Stadium J strömen zum ersten Mal farblose Blutkörperchen über den Dottersack zum Herzen. Die Zuckungen des Rumpfes haben sich zu dieser Zeit auf 3—5/Minute vermehrt. Rote Blutkörperchen treten erst in Stadium K in Erscheinung.

Zu den Lageveränderungen des Schwanzes, die zu Drehbewegungen des ganzen Keimes führen (LEREBoullet 1862, Schnellbewegungen nach WUNDER 1935), kommen kurz vor dem Schlüpfen eigenartige, langanhaltende Zitterbewegungen des Kopfes und Schwanzes und ein Stemmen des Embryo gegen die sehr dünn und

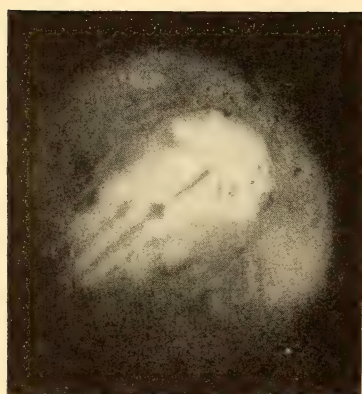
brüchig gewordene Eischale, denen lange Ruhepausen folgen. WUNDER (1935) hat beim Karpfen auch die drei verschiedenen, hintereinander auftretenden Bewegungsarten festgestellt, die schliesslich an irgendeiner Stelle zum Reissen der Eikapsel führen. Nach HARDER (1953) ist auch anzunehmen, dass der Schlüpfvorgang durch den steigenden Gewebedruck der Chorda zumindest eingeleitet, wenn nicht im ganzen bewerkstelligt wird. Beim normalen Schlüpfvorgang dringen zuerst der Kopf und die vordere Partie des Dottersackes hervor (Abb. 6, p. 396). Meist verharret der Embryo in dieser Lage längere Zeit, um schliesslich mit intermittierenden Schlängel- und Schwimmbewegungen sich gänzlich aus der Eihülle zu befreien. Zuweilen kann das Schlüpfen aber auch durch Austreten des Schwanzes oder des Dottersackes aus der Eikapsel eingeleitet werden. Während sich die ersteren zu normalen Jungfischen entwickeln, sterben die letzteren meistens ab (LINDROTH 1946). Vermittelst paariger, vor den Augen liegender Haftorgane, die bei Wasserzutritt in Tätigkeit treten (WUNDER 1935), heftet sich der Jungfisch meist schon kurz nach dem Schlüpfen an beliebigen Stellen seiner Umgebung an (Wasserpflanzen etc., sogar Wasseroberfläche; Abb. 7, p. 396). Zuweilen verharret er auch in einem Zustand völliger Immobilität am Boden, um sich erst später anzuheften (LEREBOULLET 1862, KEHRLI 1934, SCHINDLER 1935). Hiermit beginnt die Ruhephase der postembryonalen Periode.



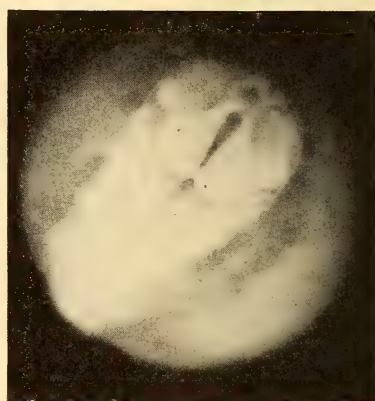
Stadium B



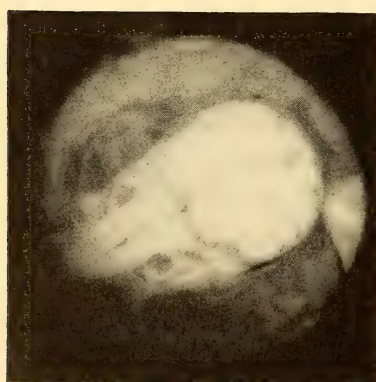
Stadium D



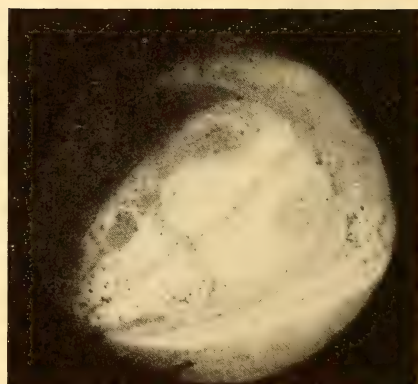
Stadium F



Stadium H



Stadium J



Stadium K

ABB. 4.

Embryonalphase, Mikrophotos, Vergr. $18\frac{1}{2}$: 1.

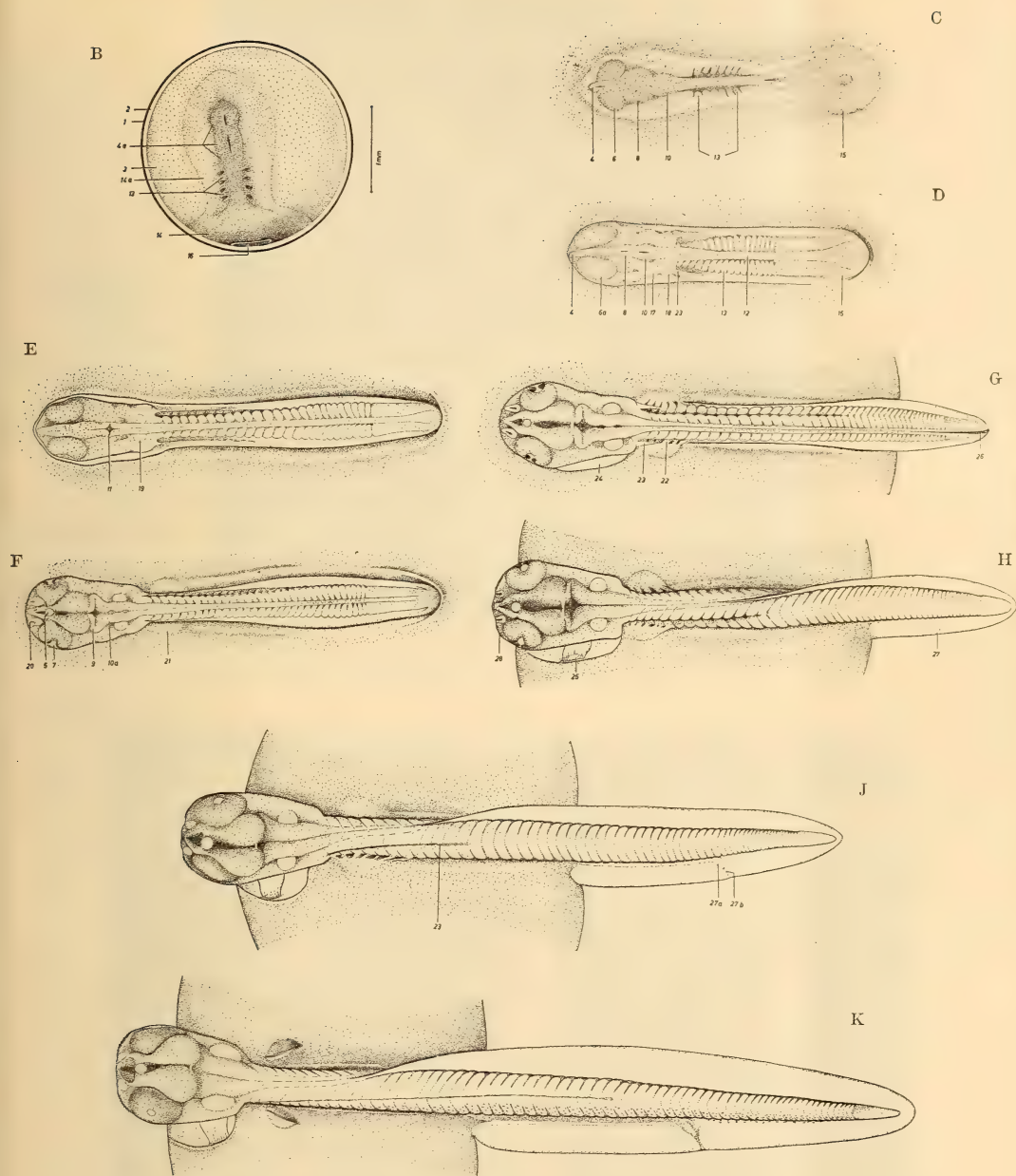


ABB. 5.

Stadien B—K der Embryonalphase.

1) Eischale. — 2) Perivitelliner Raum. — 3) Dotter. — 4) Prosencephalon. — 4 a) Primitive Gehirnplatte mit Pros-, Mes- und Rhombencephalon. — 5) Epiphyse. — 6) Augenanlage. — 6 a) Augenbecher. — 7) Linse. — 8) Mesencephalon. — 9) Metencephalon. — 10) Rhombencephalon. — 10 a) Myelencephalon. — 11) Anlage der Rautengrube und der Rautenohren. — 12) Rückenmark. — 13) Somiten. — 14) Undifferenziertes Zellmaterial des Randringes. — 14 a) Embryonalsaum. — 15) Undifferenziertes Zellmaterial des Schwanzknopfes (n. Ziegler). — 16) Blastoporus. — 17) Anlage des Hyoidbogens. — 18) Anlage des dritten Visceralbogens und der folgenden. — 19) Ohranlage. — 20) Riechplakode. — 21) Anlage der Brustflosse. — 22) Muskelknospen. — 23) Anlage der Seitenlinie. — 24) Pericard. — 25) Primitiver Herzschlauch. — 26) Anlage des Flossensaumes. — 27) Anlage der Kloake. — 27 a) Blindes Endstück des Rumpfdarmes. — 27 b) Harnröhre. — 28) Anlage der Haftdrüsen.



ABB. 6. — Normaler Schlüpfvorgang. Mikrophoto, Vergr. $18\frac{1}{2}$: 1.

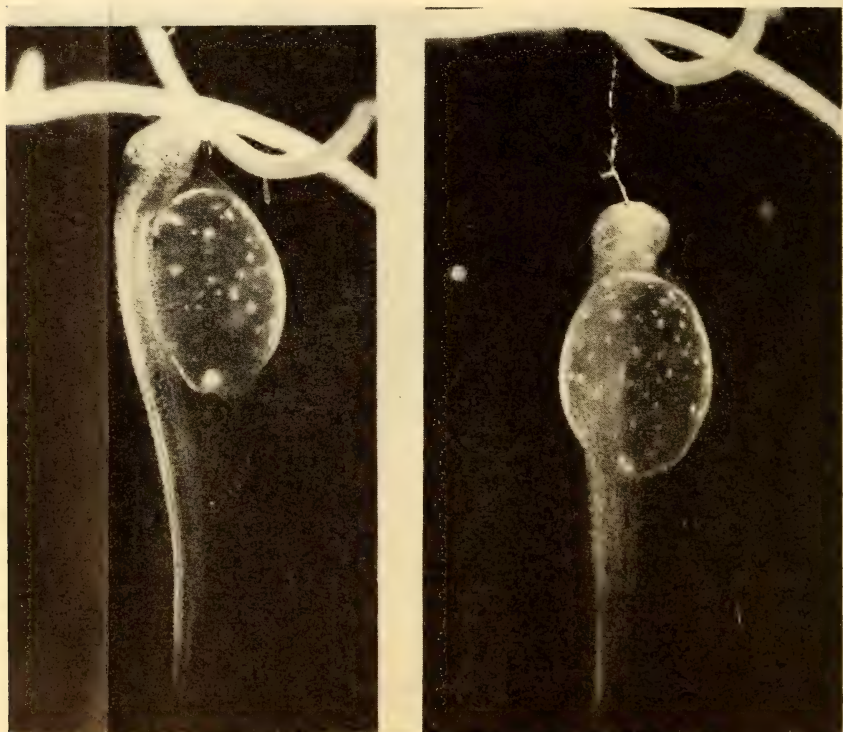


ABB. 7. — Hängender Jungfisch. Mikrophoto, Vergr. 8: 1.

II. MORPHOLOGIE DER POSTEMBRYONALPHASE.

A. Anheftungsphase.

1. *Aeussere Charakterisierung der Stadien 1—4.*

(vergl. hierzu Abb. 10, 1—4, p. 415.)

Stadium 1 (kurz nach dem Schlüpfen):

Das Mittelhirn bildet die Kopfspitze. Die typische, s-förmige Krümmung des Junghechtes in der Sagittalebene ist hauptsächlich durch die starke Biegung des Kopfes bedingt. Dadurch neigt sich die Augenlängsachse und bildet mit der Körperlängsachse einen Winkel von fast 80° . Die Haftorgane und Riechgruben liegen auf der Ventralseite; median davor scheint der Ventrikel des Telencephalons durch. Die Brustflossen erheben sich als kleine Paletten über der dorsalen Oberfläche des Dottersackes unmittelbar hinter der Kiemenregion und stehen schräg nach hinten vom Rumpf ab. Der primitive, in Atrium und Ventrikel gegliederte Herzschnlauch liegt noch auf der linken Körperseite.

Stadium 2:

Durch das nun einsetzende, rapide Wachstum des Unterkiefers rückt auch das Vorderhirn frontalwärts und bildet zusammen mit dem Mittelhirn die Kopfspitze. Dadurch gerät die Längsachse der Augen in eine Schräglage von 60° — 45° zur Körperlängsachse. Auf der Ventralseite vor dem Pericard zeichnet sich durch die im Innern auftretende Skelettbildung die Mundbucht deutlicher von der Umgebung ab. Während der Operkel sich an seiner Peripherie von der Epidermis zu lösen beginnt, setzt in der caudalen Region des Dottersackes Gefässbildung ein, die rostralwärts fortschreitet. Die Ansatzstelle der Brustflosse schickt sich an, in eine zur Körperlängsachse senkrechte Lage überzugehen. Zu dieser Zeit setzt an der Basis der Herzkammer die erste Krümmung ein.

Stadium 3:

Das Vorderhirn bildet allein die Kopfspitze. Die Längsachse der Augen steht in einem Winkel von 30° — 20° zur Körperlängsachse. Die Rachenhaut der ventralgelagerten Mundbucht bricht durch oder ist bereits geöffnet wie der Operkel. An Stelle des noch dürftig entwickelten Unterkiefers übernimmt die dorsale Atem-

klappe gemeinsam mit dem häutigen Munddach die Funktion des Mundverschlusses. Der Herzschlauch erfährt beim Eingang in den Vorhof (Aurikel) eine zweite Abwinkelung, die der ersten entgegengesetzt verläuft. Dadurch wird ein Prozess eingeleitet, der zu einer dorsalen Verlagerung des Vorhofes führt und die Linkslage des Herzens aufhebt. Bindegewebszellen beginnen in die caudale Region des protocerken Flossensaumes einzuwandern, um die erste Anlage der Schwanz-, Rücken- und Analflosse zu bilden. Zu dieser Zeit hat der Enddarm $\frac{3}{4}$ der Breite des Flossensaumes durchwachsen.

Stadium 4:

Die ventrale Kopfpattie hat sich soweit vergrößert und in die Länge gestreckt, dass die Oberlippe nun die Kopfspitze markiert. Durch dieses Vorwachsen wird der in Stadium 3 caudal vom hinteren Augenrand gelegene „Unterkieferwinkel“ soweit rostralwärts verschoben, dass er nun direkt unter den Augenhinterrand zu liegen kommt. Die Längsachse der Augen läuft jetzt der Körperlängsachse parallel. Mit dem Strecken der ventralen Kopfpattie werden auch die Riechgruben passiv von der ventralen Seite nach frontal verlagert. Die Wanderung erfolgt nicht wie bei *Salmo* über die Lateralseite, sondern — wie bei *Polyacanthus* — direkt über das rostrale Ende des Kopfes, das heisst in der von HIS und KEIBEL angegebenen Weise (REINKE 1937). Die Haftorgane liegen fronto-ventral auf einer Hautfalte unter den Augen. Durch die dorsale Verlagerung des Vorhofes, der von der Herzkammer ventral ganz verdeckt wird, ist die Linkslage des Herzens vollständig aufgehoben. Der M. sterno-hyoideus hat das Pericard zur Hälfte umwachsen. Die Brustflossen nehmen dadurch eine zur Körperlängsachse senkrechte Lage ein. Von den Myomeren sich abtrennende Muskelknospen wandern in die mesenchymatische Anlage der Rücken- und Analflosse ein. Auf halber Strecke zwischen caudaler Dottergrenze und After differenziert sich die Anlage der Bauchflosse.

2. Anatomisch-histologische Beschreibung der Stadien 1—4. (vergl. hierzu Abb. 11, 1, 3, 4, p. 416.)

Da die Ontogenese der Darmschleimhaut als besonderes Merkmal der postembryonalen Stadien 1—4 hervorzuheben ist, sei der Besprechung der histologischen Verhältnisse eine kurze Übersicht

über die diesbezügliche Literatur vorangestellt. MAURER (1906) schreibt im Handbuch der vergleichenden Entwicklungslehre der Wirbeltiere von O. HERTWIG: „Über die histologische Ausbildung der Schichten des Magens und Darmes der Ganoiden und Teleostei fehlen genaue Angaben. Im Magen kommen Fundus- und Pylorusdrüsen zur Ausbildung, im Mittel- und Enddarm fehlen Drüsen. In welcher Weise und in welchen Stadien die mannigfaltigen Faltenbildungen im Darm der Fische sich entwickeln, ist nicht genauer erforscht.“

1907 erschien die Arbeit von EGOUNOFF über die histologische Entwicklung des Darmes der Bachforelle, der 1908 die Arbeit von PETERSEN über den Bau und die Entwicklung des Selachierdarmes folgte. JACOBSHAGEN (1911—1915) macht zu Beginn seiner umfassenden Untersuchungen über das Darmsystem der Fische und Dipnoer aufmerksam auf den Mangel an Angaben über die Ontogenese des Reliefs. Der Arbeit von WALTHER SCHMIDT (1915) über den Darmkanal von *Lophius piscatorius* folgten die ontogenetischen Untersuchungen von SMALLWOOD (1931) am Darm des Karpfens. 1938 beschäftigte sich GÜNTERT mit der Entwicklung der Schleimhautfalten des Darmes von *Salmo irideus*. Die Mitteilungen von KLUST (1940/41) über die Entwicklung und den Bau des Darmes beim Karpfen wurden von EBERL-ROTHER (1952) ergänzt. Über die Ontogenese der Schleimhautfalten bei *Esox lucius* liegen noch keine Angaben vor.

Es soll noch kurz erwähnt sein, dass WUNDSCH (1931) unter den Nutzfischen des Süßwassers fünf Darmtypen unterscheidet:

- a) den der Salmoniden,
- b) „ „ Perciden,
- c) „ des Hechtes,
- d) „ der Cypriniden,
- e) „ des Aals.

Die Sonderstellung des Hechtes werden wir auch vom embryologisch-histologischen Gesichtspunkt aus bestätigen können.

Stadium 1 (kurz nach dem Schlüpfen):

Die charakteristische Nackenbeuge kommt erst jetzt, da der Embryo die Eihülle verlassen hat, voll zur Geltung. Vor dem stark ventralwärts abgebogenen rostralen Ende der Chorda dorsalis liegt das Infundibulum des Zwischenhirns, dem die Adenohypophyse

ventral dicht angelagert ist. Sie steht mit dem Epithel des Munddaches durch einen dünnen Stiel noch in Verbindung. Als kompakte, keulenförmige Anlage wuchert die Schilddrüse unmittelbar vor dem Truncus arteriosus aus dem Epithel des Mundbodens in das subepitheliale Bindegewebe. (Vergl. Detailbild Stad. 1, Abb. 11, p. 446.) Das Riechorgan, dessen Grube durch innere Aushöhlung bereits entstanden ist, aber durch die Deckschicht noch verschlossen wird, tritt nun durch Zerreißen oder Atrophieren dieser obersten Zellschicht mit der Aussenwelt in Verbindung.

REINKE (1937) stellt diese Bildungsart dem ursprünglicheren Salmotyp gegenüber, bei dem die Entstehung des Grübchens erst nach erfolgter Atrophie der Deckschicht durch direkte Eindellung von der Oberfläche her erfolgt, wie es HOFFMANN, HIS, HOLM (cit. nach PETER aus dem HERTWIG'schen Handbuch, Bd 2, T. 2, V. p. 16) an der Forelle nachgewiesen haben.

Unmittelbar hinter der Rachenhaut wird die dorsale Atemklappe als Epithelfalte angelegt. Im ganzen Kiemendarm geht der Verdoppelungsprozess des Epithels und die damit verbundene Lumenbildung weiter. An der dorsalen Wand der 1. Visceralspalte stülpt sich die Anlage der Pseudobranchie ins Innere des Kiemendarmes vor. MAURER (1884) war diese früheste Differenzierung noch nicht bekannt. Er wies ihre Anlage erst an 6 Tage alten (11 mm langen) Hechten nach als eine fast kreisrunde, dem Hyomandibulare medial angelagerte Zellmasse, die in ihrem unteren Drittel von mehrschichtigem Epithel überzogen war und 12 Federn in einfacher Lage aufwies. Nach KRYSANOWSKY (1934) ist die Pseudobranchie bei Formen, deren Kiemen schon vor der Rückbildung der larvalen Atmungseinrichtungen (Dottersackgefäßnetz, usw.) ausgebildet werden, ein rudimentäres Organ, besonders bei *Esox lucius*, das — frei angelegt — hier sehr schnell vom Mundepithel überdeckt wird.

Latero-dorsal beim Übergang in die Schädelbasis setzt an der caudal gerichteten Wand der 3., 4., 5. und 6. noch geschlossenen Visceralspalte eine kaum merkliche Zellwucherung ein, die die ersten Vorläufer der Thymusanlage darstellen. MAURER (1886), der an der Forelle zum 1. Mal die Entstehung der Thymus aus Knospen der Visceraltaschen nachgewiesen hat, entging dieses frühe, rasch vorübergehende Stadium. Er stellt an 12 mm langen Hechten eine bereits einheitliche Thymusanlage fest, die sich

lateral von der Anheftung der dorsalen Kiemenbogenenden an die Schädelbasis über den 1.—4. Kiemenbogen erstreckt.

Der Kiemendarm geht caudal in den noch kurzen, dorso-ventral abgeflachten, soliden Oesophagus über, dessen unregelmässig geschichtetes Epithel in starker Vermehrung begriffen und gegen das

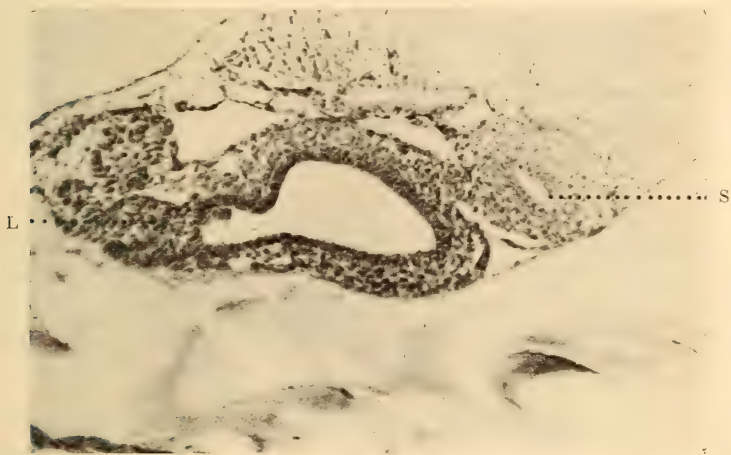


ABB. 8.

Rumpfdarm in Torsion:

L = Leber, links vom Darm; S = Schwimmblase, rechts vom Darm
(Stadium 1) (Mikrophoto), Vergr. 145: 1.

subepitheliale Bindegewebe nicht scharf abgegrenzt ist. Er öffnet sich an seinem caudalen Ende zuerst lateral, dann median in den vorderen Rumpfdarm. Infolge der noch bestehenden Torsion (Abb. 8) mündet die Schwimmblase von rechts, die Leber von links in den Darm. Letztere ist in ihrer ganzen Länge vom Darm abgeschnürt und steht nur noch caudal — durch die Mündungsstelle des primären Leberganges, die unmittelbar und ventral von der Einmündungsstelle des Ductus pancreaticus liegt — mit ihm in Verbindung.

Da das gesamte, bereits sehr umfangreich gewordene Organ sich rostral von der Mündung des primären Leberganges erstreckt, wird der zuerst seitwärts ziehende, kurze Gang nach vorne abgebogen. An seiner nahe der Mündung gelegenen Umbiegungsstelle gliedert er an der caudalen Wand ein Divertikel ab, das die erste

Anlage der Gallenblase darstellt. Somit wird der letzte, distale Abschnitt des primären Leberganges zum Ductus choledochus. Das Pancreas dorsalis hat seine Verbindung mit dem Darm aufgegeben.

Der Rumpfdarm weist in seinem ganzen Verlauf, besonders in seinem rostralen und mittleren Abschnitt ein geräumiges Lumen auf. Sein Epithel besteht aus 2—3 unregelmässig geschichteten Zellagen. Das Endstück des Darmes endet blind und liegt als kleiner, kompakter Strang rostral der Harnröhre an, um schliesslich auf halber Höhe des Flossensaumes mit ihr zu verschmelzen.

Stadium 2:

Die Haftorgane stehen — wie in Stadium 1 — auf dem Höhepunkt ihrer Aktivität. Doch sind die schleimproduzierenden Zylinderzellen, die das Epithel der hohen Faltenzüge bilden, in ihrem apikalen Teil nicht mehr so kolbenförmig, sondern schmaler und stehen eng und dicht gedrängt.

In der Ohrblase gelangen die Bogengänge zur Ausbildung, indem jeweils von der Wand der Ohrblase her 2 Zapfen einander entgegenwachsen und schliesslich eine gemeinsame Brücke bilden. (Die ersten Anzeichen einer Zapfenbildung machen sich bereits in Stadium 1 bemerkbar.) Die auf diese Weise entstandene rostrale Quer- und laterale Längsbrücke trennt den vorderen und horizontalen Bogengang von der übrigen Ohrblase ab. Die primäre, sehr dünne, elastische Chordascheide hebt sich deutlicher von der protoplasmatischen Rindenschicht der Chorda ab, deren Abscheidungsprodukt sie darstellt. KLAATSCH und v. EBNER glauben, dass sie von jugendlichen Chordazellen abgeschieden wird und zwar zu einer Zeit, da sie noch ganz protoplasmatisch und vakuolenfrei sind (nach SCHAUINSLAND aus dem HERTWIG'schen Handbuch, Bd 3, IV, p. 459). In der Tat erkennt man schon in Stadium D und E der embryonalen Phase eine sehr dünne, strukturlose Membran um den fast noch vakuolenfreien Chordastrang.

Im Kopf haben sich aus den vorknorpeligen Anlagen die ersten Knorpelknochen des Neurocraniums, so die Trabeculae baseos cranii und die Parachordalia differenziert, mit denen seitlich die periotischen Knorpelanlagen verwachsen. Gleichzeitig erscheinen im Visceralskelett neben dem Meckelschen Knorpel die Anlagen

des Hyoidbogens und des Hyomandibulare sowie die Kiemenbogen als einheitliche Knorpelstäbe (STÖHR 1882).

Als erster Deckknochen tritt lateral vom 3. Myotom die Anlage des Cleithrums im Bindegewebe auf.

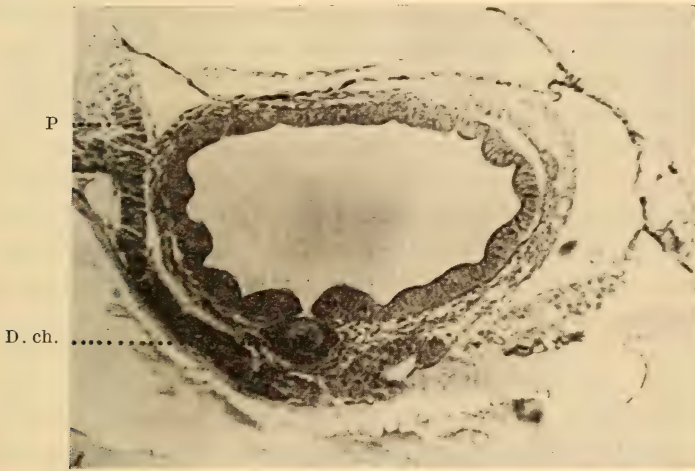


ABB. 9.

Torsion des Darmes aufgehoben:

P = Pancreas, rechts vom Darm;

D. ch. = ventral einmündender Ductus choledochus.

(Stadium 3 spät) Mikrophoto, Vergr. 145: 1.

Der M. sterno-hyoideus und die rostrale hypaxionische Rumpfmuskulatur rücken ventralwärts und beginnen den Dotter zu überwachen.

Die Schilddrüse hat sich vom Boden der Mundhöhle abgelöst und liegt als Zellkomplex vor der Gabelung des vordersten Arterienbogens. Die Hypophyse — durch einen sehr dünnen Stiel mit dem Munddach in Verbindung — trennt sich erst gegen Ende des Stadiums 2 von ihrem Ursprungsort los.

Mit Ausnahme des Oesophagus, der noch ganz geschlossen ist, besitzt der Vorderdarm ein durchgängiges Lumen. Die Kiementaschen und die Mundbucht stehen gegen Ende des Stadiums 2

kurz vor dem Durchbruch. Zu dieser Zeit differenzieren sich an den Kiemenbogen die Kiemenblättchen.

Hinter dem soliden, dorso-ventral abgeplatteten Oesophagus verläuft der Rumpfdarm leicht nach links abgebogen. Die zwischen der Mündungsstelle des Ductus pneumaticus und Ductus choledochus gelegene Darmstrecke hat sich bedeutend verlängert und stellt die primitive Magenöhle dar, die noch keine Eigenstruktur aufweist und ohne diese Grenzmarken vom übrigen Rumpfdarm nicht abzugrenzen wäre. Die Torsion des vorderen Darmabschnittes ist durch eine rückläufige, aber erst in Stad. 3 abgeschlossene Bewegung (Retorsion) nahezu vollständig aufgehoben (s. Abb. 9). An der dorsalen Einmündung der Schwimmblase und der ventro-lateral liegenden Mündungsstelle des Ductus choledochus ist dieser Vorgang deutlich abzulesen. Letzterer hat sich beträchtlich verlängert; von seiner jetzt stark verengten Mündungsstelle zieht er zuerst schräg caudo-ventral nach links aussen und biegt dann als Ductus hepaticus rostralwärts gegen die auf der linken Körperseite liegende Leber um, die sich mit ihrem rostralen Abschnitt unter dem Darm zur rechten Seite hin ausgedehnt hat. Die an der Umbiegungsstelle abgegliederte Gallenblase ist nicht mehr genau caudal sondern ventro-caudal gerichtet. An dieser Lageveränderung ist die nun einsetzende Achsendrehung des Ductus choledochus erkennbar.

Caudal vom soliden Oesophagus bis zur Lebergrenze (Ductus choledochus) ist das Darmepithel 1—2 schichtig, glatt ausgespannt und ohne Erhebungen. In dem dahinterliegenden Darmabschnitt führt jedoch eine starke Zellvermehrung zur Vorphase der Längsfaltenbildung, die im Sinne GÜNTERTS (1938) Epithelerhöhungen ohne Beteiligung des subepithelialen Gewebes darstellt. Der Prozess schreitet caudalwärts fort. Die Faltenbildung setzt also in jenem Teil des Darmes ein, der sich in der Folge zum Mittel- und Enddarm differenziert, was im Gegensatz steht zu den Befunden GÜNTERTS an *Salmo irideus*. Nach seinen Beobachtungen tritt die erste Vorbildung der Falten im Magenteil auf, denen viel später (erst in Stadium 3) Faltenbildungen des soliden Oesophagus und des Rumpfdarmes folgen. Der Rumpfdarm von *Salmo irideus*, in dem zuerst Quer- nicht Längsfalten erscheinen, bleibt weit hinter dem Entwicklungsgrad von Oesophagus und Magen zurück, was (nach GÜNTERT) eine stufenweise Differenzierung von vorne nach

hinten andeutet. Beim Karpfen setzt die Reliefbildung am Schlund und After ein und ergreift von dort aus den ganzen magenlosen Darm (KLUST 1940/41).

Um den Oesophagus differenziert sich das Bindegewebe zur Ringmuskulatur. In der Magengegend verdickt es sich stark, bleibt aber noch indifferent und bildet um den caudal angrenzenden Darmteil eine 2—3 schichtige Hülle.

Gegen Ende des Stadiums 2 tritt links — dorsal im Mesenchym des Darmes in der Höhe des elften Somiten und unmittelbar hinter den letzten Ausläufern des Pancreas dorsalis eine Verdickung auf: die Anlage der Milz, wie sie auch LAGUESSE (1890) für die Forelle nachgewiesen hat.

Die rostral stark gewundenen Harnleiter münden in die noch relativ kleine Harnblase, die sich durch die Harnröhre nach aussen öffnet.

Stadium 3 (früh):

Die Thymus erscheint jetzt als ein einheitlicher, rostro-caudal sich hinziehender Zellwulst lateral von der Anheftung der dorsalen Kiemenbogenenden an die Schädelbasis und erstreckt sich über den 1.—4. Kiemenbogen, bleibt aber — wie es auch MAURER für die Forelle angab — mit ihrem Mutterboden, dem Kiemenhöhlenepithel, in Verbindung.

In den zu kleinen Acini angeordneten Zellgruppen der Thyreoidea finden sich die ersten Spuren von Kolloid.

Die Reduktion der Haftorgane hat eingesetzt und ist an den langen, spitzen Zellen des Zylinderepithels deutlich erkennbar. Die 3 Bogengänge des Labyrinthes sind angelegt.

An verschiedenen Körperstellen, so in der Region der Seitenlinienanlage längs des Rumpfes, auf dessen Ventralseite und dorsal am Kopf (besonders in der Ohrregion) treten die ersten Spuren einer Differenzierung des Coriums auf, die sich in dem Sichtbarwerden einer dünnen, homogenen Schicht äussert.

Die Trabeculae sind rostral zu einem einheitlichen Stab zusammengewachsen. Der Quadratenteil des Palatoquadratum, von dem aus die Differenzierung des knorpeligen Pterygopalatinteils erfolgt und rostralwärts fortschreitet (wie es STÖHR 1882 für die Forelle nachgewiesen hat), liegt dicht über dem caudalen Ende des Meckelschen Knorpels. Vom Hinterrand des Hyomandibulare

geht der Hyoidbogen ab, dessen oberstes Ende stark verdünnt, aber noch nicht als eigentliches Stylohyale abgetrennt ist. Etwas dorsal von dieser Ansatzstelle wird — gleichfalls am Hinterrand des Hyomandibulare — das Operculum als reiner Deckknochen angelegt. An der Stelle der späteren *Pharyngaea inferiora* und *superiora* treten die ersten Zahnanlagen auf (WALTHER 1883).

Das 1—2 Schichten dicke, aus unregelmässig übereinander angeordneten Zellen aufgebaute Epithel des soliden Oesophagus bildet gegen das subepitheliale Bindegewebe keine Basalmembran aus und greift demzufolge mit zackigen Rändern in das Gefüge des noch undifferenzierten, unterliegenden Gewebes. Eine dünne Ringmuskelschicht und anschliessende Serosa umschneiden als äusserste Hülle diesen Darmabschnitt. Weder das Epithel des soliden Oesophagus noch das des Magengebietes zeigen irgendwelche Spuren einsetzender Faltenbildung.

Ein geringes Stück rostral vor der Abzweigungstelle des Ductus pneumaticus weitet sich die Speiseröhre zum Lumen des Magens, dessen 1—2 schichtiges kubisches Epithel basal von einer Grenzlamelle gegen das subepitheliale Bindegewebe abgegrenzt wird. Die Ringmuskelschicht und das lockere, indifferente Bindegewebe des Oesophagus verlieren sich in dem mächtigeren und dichterem, gleichfalls indifferenten des Magens. Eine deutliche Pylorusgrenze lässt sich noch nicht ziehen, und die Mündungsstelle des Ductus choledochus muss noch immer als einzige Erkennungsmarke für den Beginn des Mitteldarmes gelten (dies wäre beim adulten Darm nicht mehr zulässig, da dort der Gallengang ein beträchtliches Stück hinter dem Pylorus einmündet. Auch stellt — nach JACOBSEN — die Distanz zwischen Pylorus und Mündung des Ductus choledochus eine variable Grösse dar). Das subepitheliale Bindegewebe nimmt hinter der caudalen Magengrenze rasch wieder eine lockere Beschaffenheit an und besteht nur noch aus einer 2—3 Zellen mächtigen Schicht, in der die Differenzierung zu Muskelfasern einsetzt. Der Anfangsteil des Mitteldarmes ist durch eine geringere Intensität der Faltenbildung ausgezeichnet als der caudal von der Milz gelegene Teil (Abb. 16, p. 416). Findet man dort das Epithel noch im Stadium der Vorphase (Längsfalten ohne Beteiligung des Bindegewebes), so treten in dem hinter der Milz gelegenen Abschnitt erstmals Anzeichen echter Faltenbildung auf, indem das Bindegewebe in die Epithelerhöhungen einzieht. Weiter

caudalwärts befindet sich jedoch die Schleimhaut wieder im Stadium der Vorphase, geht sogar auf einer kurzen Strecke in das indifferente Anfangsstadium des ungefalteten Darmrohres über, um schliesslich im caudalsten Bereich erneut ins Stadium der Vorphase zu treten. Der Enddarm endet noch blind. Die Harnblase beginnt sich rostralwärts auszubuchten.

Von einer caudo-ventralen Abbiegung des Ductus choledochus findet sich keine Spur mehr. Ausgehend von seiner Mündungsstelle in den Mitteldarm zieht er direkt rostralwärts zu der auf der linken Körperseite liegenden Leber. Unterwegs zweigt die nun ventral von ihm liegende, durch einen kurzen Ductus cysticus mit ihm in Verbindung stehende Gallenblase ab. Aus ihrer Lage ist ersichtlich, dass sich gleichzeitig mit der rostralen Verlagerung am Ductus choledochus eine Achsendrehung um 90° vollzogen haben muss.

Stadium 3 (spät):

Die Aktivität der Haftdrüsen ist sehr herabgesetzt, das Zylinderepithel bildet lange, spitze Falten und weist nur noch geringe Spuren einer Sekretion auf.

Während sich das Hypohyale vom Hyoidbogen abgliedert, differenziert sich das Glossohyale (Basihyale) vor dem unpaaren Copulastab, mit dem es nur in dünner Verbindung steht. Letzterer gabelt sich caudal in zwei Aeste, die das 5. rudimentäre Kiemenbogenpaar darstellen. Bis zum Chiasma opticum bilden die Trabeculae einen einheitlichen Knorpel.

Die periotische Knorpelplatte umfasst lateral bis auf halbe Höhe das häutige Labyrinth. Während sich das Maxillare differenziert, setzt am Meckelschen Knorpel die Verknöcherung und Bildung des Dentale ein. Zu den Zahnanlagen der Mundhöhle im Gebiet der späteren Pharyngaea superiora und inferiora treten weitere auf dem Vorderende des Ethmoidalknorpels. Das Pericard, das zu $\frac{3}{4}$ seines Umfanges vom Cleithrum umwachsen ist, wird auch vom ventralwärts wandernden M. sterno-hyoideus zur Hälfte umfasst. Ebenso umgibt die hypaxonische Rumpfmuskulatur bis auf halbe Höhe den rostralen Bezirk des Dottersackes.

Die ventro-mediane Zone der Bauchhaut ist durch besondere Intensität des Wachstums und der Differenzierung ausgezeichnet. Ein Teil ihrer noch indifferenten Epithelzellen geht auf einer Strecke, die sich vom Herzen bis zur caudalen Dottergrenze hin-

zieht, in einen Zustand eigentümlicher, transitorischer Vakuolisierung über, der noch bis weit in das 1. Stadium der freien Phase andauert. Die Vakuolisierung, die sich in allen Schichten der Epidermis vorfindet, nimmt im Plasma der betreffenden Epithelzellen am Rande des Zellkerns ihren Anfang, zuerst in Form einer kleinen Vakuole, die schliesslich ein solches Ausmass annimmt, dass das Plasma zu einer dünnen Zellwand ausgezogen und der Kern peripher verlagert erscheint. Eine wabige, unregelmässige und reich verzweigte Struktur durchsetzt das Innere der querovalen, hellsichtigen Vakuole. Häufig — besonders in den grösseren und grössten Zellen finden sich körnig bis kugelige, stark acidophile Einschlüsse, die zu ansehnlicher Grösse heranwachsen können und sich mit HEIDENHAIN'schem Haematoxylin intensiv schwarz, mit Metanilgelb glänzend gelb und mit Eosin rot anfärben. Sie zeigen somit die gleiche Färbbarkeit wie der Dotter. Diese nur relativ kurze Zeit auftretenden Zellen sind am ehesten serösen Drüsen des ersten von RABL (i. Handbuch der vergl. Anatomie der Wirbeltiere v. Bolk 1931, Bd. I, p. 296) beschriebenen Typus gleichzusetzen, die in niederer Epidermis vorzufinden sind und (nach RAUTHER) analog den Kolbenzellen evtl. auch zur Festigung der Haut beitragen.

Im Epithel der Mundhöhle treten bis vor den Verschluss des Oesophagus vereinzelt Becherzellen auf. Das 2—3 schichtige, aus polygonalen Zellen aufgebaute Epithel des letzteren grenzt ohne Basalmembran an das lockere, indifferente, subepitheliale Bindegewebe, das eine ziemlich mächtige Schicht bildet. Eine dünne, aus 2—3 Zellagen bestehende Ringmuskelschicht und eine zarte Serosa schliessen nach aussen hin ab.

Der Oesophagus weist nur noch in seinem caudalsten Bereich einen epithelialen Verschluss auf, der Prozess des Oeffnens vollzieht sich demnach in rostro-caudaler Richtung. In dem bereits offenen Abschnitt weist das Epithel und Bindegewebe dorsal und ventral zwei leicht geschwungene, medial liegende Wellenzüge auf, die ersten Anzeichen der Anlage von Längsfalten. Die Erhöhung und leicht wellige Beschaffenheit hat ihre Ursache nicht wie sonst in einer örtlich begrenzten Vermehrung des Schleimhautepithels, in die später das Bindegewebe einzieht, sondern in einer direkten Ausbuchtung der überall gleichmässig starken Mucosa unter Mitwirkung des subepithelialen Gewebes. Eine eigentliche Vorphase der

Faltenbildung tritt hier also nicht auf; es falten sich Epithel und Bindegewebe in einem gemeinsamen Prozess.

Die Schleimhaut des Oesophagus setzt sich kontinuierlich in das 2—3 schichtige Epithel des Magens fort, das kurz hinter dem Ductus pneumaticus eine Basalmembran ausbildet. Im rostralen Magenabschnitt treten noch keine Anzeichen einer Faltenbildung auf. Erst im mittleren Teil kommt es zu reinen Epithelerhöhungen ohne Beteiligung des Bindegewebes (Stadium der Vorphase, vgl. Abb. 19, p. 433), die sich im caudalen Bereich zu echten Längsfalten umbilden. Zwischen der Mucosa und der 3—4 schichtigen Ringmuskulatur lagert sich eine lockere, ziemlich mächtige, bindegewebige Schicht ein. Kurz vor Beginn des Mitteldarmes fällt das Schleimhautepithel wieder ins Stadium der Vorphase zurück, während sich die Ringmuskelschicht stark verdickt. Eine Verengung der caudalen Magenregion, die eine deutliche Pylorusgrenze anzeigen würde, kann noch nicht verifiziert werden. Das Lumen des Magens geht in annähernd gleicher Ausdehnung in das Lumen des Mitteldarmes über, dessen Beginn durch eine fast spontane Abnahme der Dicke seiner Muskelschicht markiert wird. Der rostralste Abschnitt des Mitteldarmes ist durch eine 3—4 schichtige, im Stadium der Vorphase befindliche Epithelschicht und durch eine allmähliche Erweiterung seines Lumens ausgezeichnet. Erst hinter der Milz geht der Darm unter Verengung seines Querschnittes zu echter Faltenbildung über (vergl. hierzu Abb. 17, p. 432), die sich caudalwärts wieder verliert. Ungefähr im 1. Drittel des freien Darmabschnittes zeichnet sich durch starke Verdickung der Muskelschicht und des Epithels die Bildung einer Ringfalte (Bauhin'sche Klappe) ab, die den Mitteldarm vom eigentlichen Enddarm trennt. Caudalwärts von dieser Klappe bleibt die 3—4 schichtige Darmschleimhaut über eine kurze Strecke hin auf der primitiven Entwicklungsstufe einer ungefalteten Darmwand stehen, tritt aber bald darauf ins Stadium der Vorphase und weist gegen Ende des Darmtractus echte Längsfaltenbildung auf. Sie reicht bis zum blinden Ende des Darmes, das den Flossensaum annähernd zu $\frac{3}{4}$ seiner Breite durchwachsen hat und stark verbreitert ist.

Stadium 4:

Der Pterygopalatinteil des Palatoquadratum, der sich in caudo-rostraler Richtung differenzierte, steht seitlich durch vorknor-

peliges Bindegewebe mit dem Ethmoidalknorpel (Internasalplatte, STÖHR 1882) in Verbindung. Die gesamte Ausbildung des Schädels entspricht nun dem von WALTHER 1883 dargestellten 1. Stadium.

Es treten jetzt auch die Anlagen der dorsalen und ventralen Wirbelbogen, die aus der Konzentrierung von Sklerotomzellen des skeletoblastischen Gewebes hervorgegangen sind, als knorpelige Herde in Erscheinung. Während der Meckelsche Knorpel und das rostrale Ende des Pterygopalatinteils ihre ersten Zahnanlagen aufweisen, bildet sich an den frühest angelegten Zähnen des Schlundes bereits Dentin.

Das 2-schichtige Epithel der Mundhöhle, in welchem sich die 1. Sinnesknospen differenzieren, legt sich am rostralen Rande des Unterkiefers zu einer Hautfalte, der ventralen Atemklappe, zusammen.

Der im Durchbruch begriffene oder bereits offene Oesophagus besitzt ein 4—5 schichtiges, aus polygonalen Zellen bestehendes Epithel, dessen Oberflächenschicht von zahlreichen, sezernierenden Schleimzellen durchsetzt ist, die sich bis zum Ductus pneumaticus nachweisen lassen. Sieben breite Primärfalten, die durch kleinere Sekundärfalten weiter zerklüftet werden, greifen tief in das subepitheliale, sich zur Längsmuskulatur differenzierende Bindegewebe ein. Zahlreiche, unregelmässig im gesamten Epithel zerstreute Mitosen deuten darauf hin, dass an der Vertiefung bzw. Erhöhung der oesophagealen Längsfalten auch das Epithel durch Zellvermehrung aktiv beteiligt ist. Die oesophageale Ringmuskulatur zeigt deutlich Querstreifung. Sie bleibt nicht auf den Oesophagus beschränkt, sondern setzt sich noch über annähernd $\frac{2}{3}$ der Magenlänge in dessen Wandung fort. Während (n. KRAUSE 1923) im Adultzustand die quergestreiften Fasern des Oesophagus in der Nähe des Magens verschwinden und sich dessen Muskelschicht ausschliesslich aus glatten Fasern zusammensetzt, gibt es innerhalb der Ontogenese ein Stadium, da bis weit hinein in den Bereich der Fundusdrüsen (die ein Magengebiet deutlich charakterisieren) quergestreifte Muskulatur nachweisbar ist. (Ähnliche Befunde erhielt GÜNTERT bei *Salmo irideus*).

Die Längsfalten des Oesophagus gehen kontinuierlich in die Längsfalten des Magens über. Die polygonalen Epithelzellen wandeln sich allmählich zu niederen, fast kubischen Zylinderepithelzellen um, die sich hinter dem Ductus pneumaticus zu einreihigem

Epithel anzuordnen beginnen. Die apikalen Zellpartien differenzieren sich zu den typischen BIEDERMANN'schen Schleimpfröpfen, die nach EDINGER (1877) und OPPEL (cit. nach JACOBSHAGEN 1915, p. 452) die Mucosa des Magens charakterisieren. Ungefähr in der 2. Hälfte der Magenzone beginnen sich in ähnlicher Weise, wie es EGOUNOFF (1907) und GÜNTERT (1938) beschrieben haben, am Grunde der Falten die tubulösen Fundusdrüsen knospenförmig anzulegen (Abb. 20, p. 434). Hier sind auch häufig Mitosen anzutreffen, die zu weiterer Zellvermehrung und Vergrößerung der Knospen führen, sodass diese allmählich in die Tiefe gedrückt werden. Mit dem Größerwerden der Knospen setzt sich das Lumen des Magens kontinuierlich in die kleinen, epithelialen Verdickungen fort, die nunmehr in dem subepithelialen Bindegewebe Platz zur Erweiterung finden und zu runden bis länglich ovalen, hohlen Gebilden auswachsen. Schon im frühesten Stadium ihrer Anlage unterscheiden sich die Zellen der Fundusdrüsen von denen des Oberflächenepithels durch das Fehlen des Pfropfes, durch ihr kubisches Format und ihren zentralen, grossen runden Kern, der den grössten Teil der Zelle einnimmt. Über die Entwicklung der Fundusdrüsen ist schon viel geschrieben worden. Es seien hier nur BARTH (1868), BRAND (1877), EDINGER (1877), PATZELT (1882), OPPEL (1897) und VOIGT (1898) angeführt, die ihre Untersuchungen (mit Ausnahme von EDINGER) an höheren Wirbeltieren ausführten, während die Verhältnisse bei den niederen Wirbeltieren erst durch EGOUNOFF (1907), PETERSEN (1908), W. SCHMIDT (1915) und GÜNTERT (1938) näher untersucht wurden. Aus den Arbeiten EGOUNOFFS, PETERSENS und GÜNTERTS geht hervor, dass die Anlage und Ausbildung der Fundusdrüsen erst dann erfolgt, wenn die Wandung des Magens bereits zu Längsfalten aufgefaltet ist, ferner, dass sie zeitlich mit dem Einschichtigwerden des Oberflächenepithels und dessen Pfropfbildung zusammenfällt, wie es auch bei *Esox lucius* der Fall ist. Faltenbildung und Sprossungsprozess wären hier — entgegen der EDINGER'schen Theorie, die beide Vorgänge vereinigt — zwei voneinander getrennte, unabhängige Prozesse, wie es der Auffassung von OPPEL (s. dazu MAURER in HERTWIGS Handbuch, Bd. 2, 1. T., p. 176) und JACOBSHAGEN (1911) entsprechen würde. Die Anlage der Fundusdrüsen beschränkt sich nun nicht wie bei *Salmo irideus* ausnahmslos auf den Grund der Falten, sondern dehnt sich in der Folge bald auch

auf deren angrenzende, seitliche Partien aus, sodass schliesslich schon in naher Entfernung der Faltengipfel Drüsenbildungen anzutreffen sind und die Mucosa ganz zerklüftet erscheint. Aus der rapiden Zunahme der Magendrüsen resultiert schliesslich ein charakteristisches Netzwerk, das nur ausgespochenen Drüsenmagen zukommt und im caudalen Abschnitt des Oesophagus magenloser Fische völlig fehlt (JACOBSHAGEN 1911).

Am caudalen Magenende werden auf diesem Stadium noch keine Drüsen angelegt. Durch das massive Einwuchern der tubulösen Drüsenschläuche in das subepitheliale Bindegewebe rücken die Faltengipfel in das Mageninnere vor und füllen das Lumen nahezu vollständig aus. Es mag dahingestellt bleiben, ob hier rein mechanische Vorgänge oder Wachstumsprozesse im Spiel sind. Wahrscheinlich beteiligen sich beide Prozesse daran gemeinsam. Durch das bedeutende Wachstum der Schwimmblase wird der Magen ganz nach links verlagert. Kurz hinter dem durch deutliche Verengung des Magenquerschnittes gekennzeichneten Pylorus mündet ventral der Ductus choledochus und direkt dahinter der Ductus pancreaticus ein, der sich zuvor zu einer geräumigen Blase erweitert hat. Es darf diese Zone, die auch durch eine beträchtliche Lumenvergrösserung ausgezeichnet ist, nun unbestreitbar als eine zum Mitteldarm gehörige angesehen werden. Nimmt man — abgesehen von den schon früher deutlich sich manifestierenden Dickenunterschieden der Muskelschichten des Magens und Mitteldarmes — diese charakteristische Verengung des caudalen Magenendes als Kriterium für die Lage der Pylorusgrenze, so erkennt man, dass sich sehr früh schon (sobald von einem eigentlichen Magen überhaupt die Rede sein kann), die Vorder-Mitteldarmgrenze im RATHKE'schen Sinne (durch den Pylorus) kundgibt und die GEGENBAUR'sche Grenzmarke bereits ontogenetisch in den Bereich des Mitteldarmes fällt. Allerdings ist die Distanz Pylorus—Einmündungsstelle des Ductus choledochus sehr minim und vergrössert sich erst im Laufe des Darmwachstums; niemals aber fallen beide Grenzmarken ineinander. Es liegt die eigentliche Abgrenzung des Magens immer vor der Mündung des Gallenganges.

Auch in der Ausbildung der Schleimhaut treten die Unterschiede zwischen Magen und Mitteldarm deutlicher zutage. Das Epithel des letzteren beginnt ebenfalls einschichtig zu werden und setzt sich aus hohen Zylinderzellen zusammen, deren Kerne tropfen-

förmig ungefähr in der Zellmitte liegen und 1—2 Nucleoli aufweisen. Der apikale, dunklere Teil der Zellen differenziert sich zu feinkörnigem Plasma und bildet an der gegen das Darmlumen gerichteten Peripherie einen niederen Stäbchensaum aus. Becherzellen, die nach dem Ductus pneumaticus nicht mehr im Schleimhautepithel nachzuweisen waren, treten erneut mit dem Beginn des Mitteldarmes auf und sind bis in den Enddarm hinein feststellbar. Durch Ausbildung von echten Querfalten (Abb. 18, p. 433) in die das subepitheliale Bindegewebe eindringt, entsteht im ganzen Verlauf des Mittel- und Enddarmes ein typisches Netzwerk. Da im Mitteldarm die Querfalten in grösserem Abstand aufeinander folgen und die Längsfalten eine viel schmalere Basis besitzen als im Enddarm, gibt das Faltenrelief jeweils einen verschiedenen Aspekt. Die relativ niederen Faltenzüge des rostralen Mitteldarmepithels nehmen caudalwärts an Höhe zu. Die Differenzierung der Muscularis in eine innere, 2—3 schichtige Ringmuskulatur und äussere, 1—2 schichtige Längsmuskulatur tritt nun klar hervor.

Hinter der Ringfalte erstreckt sich der Enddarm, in dessen letztem Drittel nur noch Längsfalten vorzufinden sind. Nur eine dünne, bindegewebige Schicht trennt das caudale, noch verschlossene Ende von der Epidermis. Das Zylinderepithel der Mucosa wird gegen den After zu niedriger und verliert den Stäbchensaum.

Im ganzen Darm herrscht Schleimsekretion.

Der grösste Teil der Leber liegt nun ventral vom Darm. Die Gallenblase erscheint auf der rechten Magenseite etwas rostralwärts vom Pylorus. Der Ductus cysticus mündet von rechts kommend in den Ductus choledochus ein und zeigt damit dessen Achsendrehung um weitere 90° an. Der Gallengang wendet sich dann nach links hinten und mündet kurz hinter dem Pylorus in den Mitteldarm ein.

Im stark vergrösserten Pancreas findet sich körniges Sekret. Die nun einsetzende Wanderung der Milz ventralwärts ist aus ihrer dorso-lateralen Lage ersichtlich.

Unmittelbar vor der Ringfalte stösst man in der ventralen Epidermis auf die paarige Anlage der Bauchflossen, die sich in einer Erhöhung der Sinnesschicht zu kubisch-zylinderförmigen Zellen und einer Ansammlung von Bindegewebszellen subepidermalen Ursprungs kund tut.

3. *Das Verhalten des Jungfisches in dieser Periode.*

Während der postembryonalen Anheftungsphase treten im Organismus des Jungfisches erhebliche Veränderungen auf. SCHINDLER (1935) schildert am eingehendsten das Verhalten der jungen Hechte nach dem Schlüpfen. Sie kleben sich mittels paariger Haftorgane an Gegenständen fest und verharren so längere Zeit vollständig regungslos. Nur ab und zu löst sich der eine oder andere los, schwimmt ein kurzes Stück, um sich bald an anderer Stelle wieder anzuheften. In den ersten Tagen besteht noch eine für Hechte eigentümliche, diffuse Blutverteilung über den Dottersack, die bei anderen mitteleuropäischen Süßwasserfischen nicht zu finden ist. (SCHINDLER 1935 hat schon darauf hingedeutet.) Im Verlauf des Stadiums 2 bilden sich caudal auf dem Dottersack eigene Blutbahnen aus. Nach dem Durchbrechen der Mund- und Kiemenöffnung (Stadium 3) setzen gemeinsam mit den nun auftretenden Brustflossenbewegungen die ersten unregelmässigen, schwachen Atembewegungen ein (SPRENGER 1945). Die Dottersackatmung wird langsam durch Kiemenatmung ersetzt (SCHINDLER 1935) und der Abbau des Dottersackes allmählich von der Leber übernommen (PORTMANN und METZNER 1929).

Gegen Ende des Stadiums 4 — sobald der oesophageale Verschluss durchgebrochen ist — beginnt der Junghecht seine Schwimmblase mit atmosphärischer Luft zu füllen (LINDROTH 1946), indem er mühsam bis zur Wasseroberfläche emporschwimmt, unter Überwindung der Oberflächenspannung Luft schnappt und — ermattet wieder zu Boden sinkend — die Luftblase unter „Kaubewegungen“ in die Schwimmblase presst. Der sich mehrmals abspielende Prozess wiederholt sich nur in grossen Intervallen, da er für den jungen Fisch eine ziemliche Kraftanstrengung bedeutet. Mit zunehmendem Füllungsgrad der Schwimmblase geht der Hecht aus der vertikalen in die schräge und schliesslich horizontale Körperlage über, die ihn zu freiem Schwimmen und selbständiger Nahrungssuche befähigt. Das erste Stadium der freien Phase hat damit begonnen.

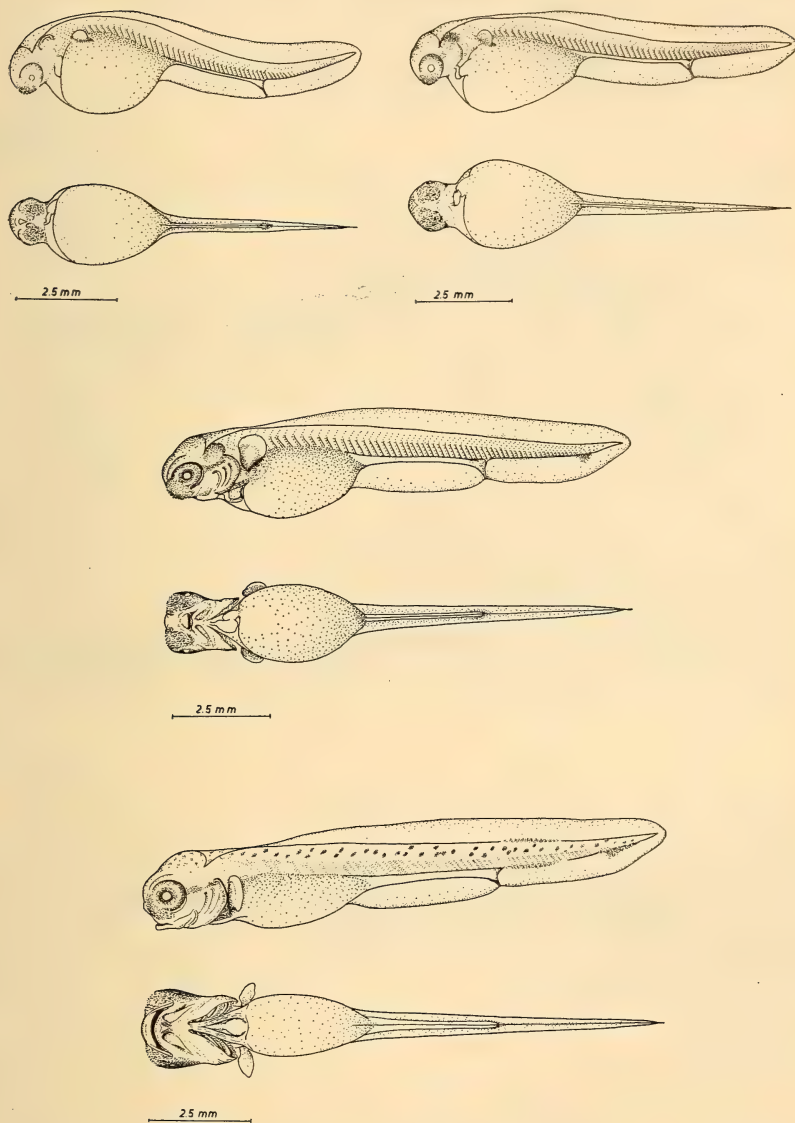


ABB. 10.
Morphologie der Stadien 1—4 der Anheftungsphase.

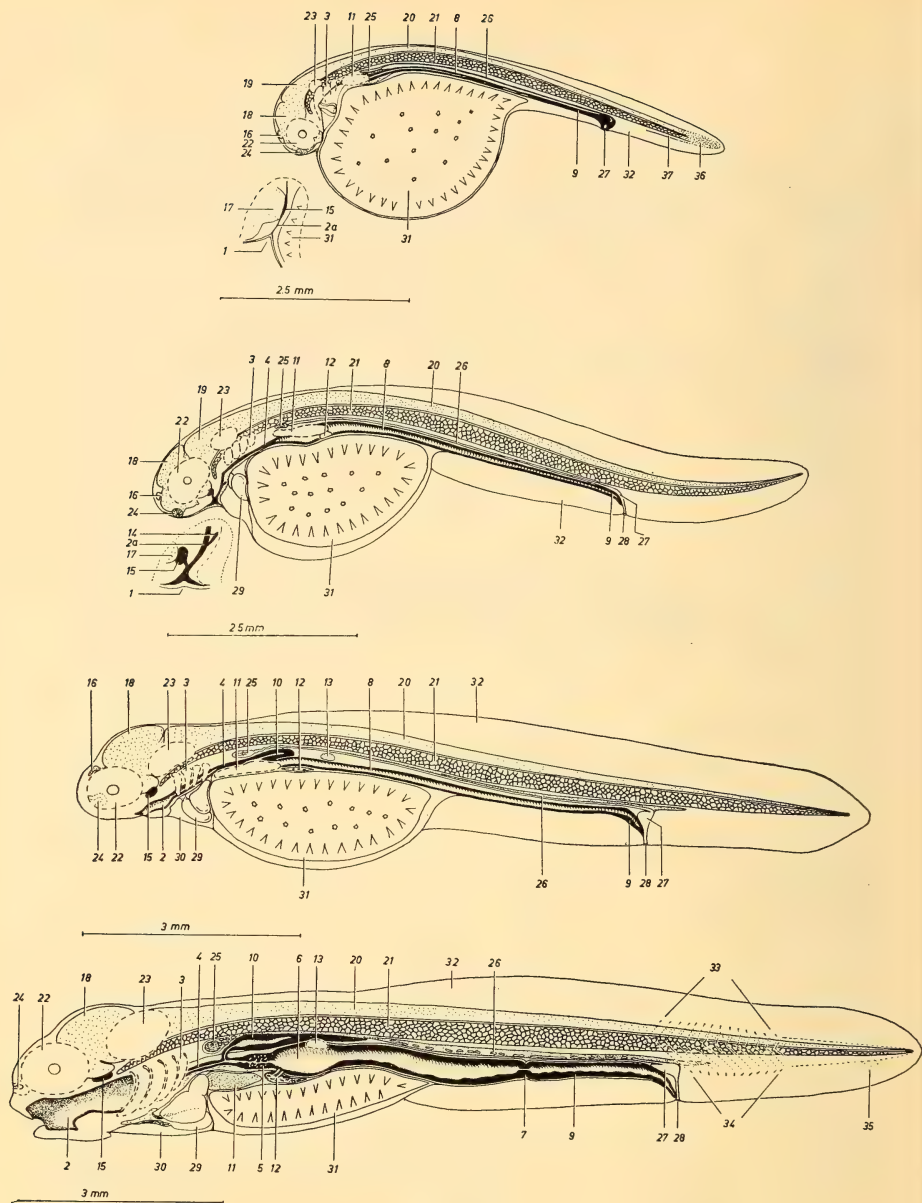


ABB. 11.

Anatomie des Stadiums H der embryonalen Phase und der Stadien 1, 3 und 4 der postembryonalen Anheftungsphase.

1) Mundbucht (mit Rachenhaut). — 2) Mundhöhle. — 2 a) Vorderdarm. — 3) Kiemenbogen. — 4) Oesophagus. — 5) Magen. — 6) Mitteldarm. — 7) Ringfalte. — 8) Rumpfdarm. — 9) Enddarm. — 10) Schwimmblase. — 11) Leber. — 12) Pancreas, in Stadium 4 mit D. choledochus (rostral) und D. pancreaticus (caudal). — 13) Milz. — 14) Thyreoidea. — 15) Hypophyse. — 16) Epiphyse. — 17) Diencephalon. — 18) Mesencephalon. — 19) Myelencephalon. — 20) Rückenmark. — 21) Chorda. — 22) Auge. — 23) Labyrinth (Ohrblase, Stad. H). — 24) Riechgrube. — 25) Glomerulus der Vorniere, in Stadium H Vornierenkammer. — 26) Niere, in Stadium H und Stadium I Urnierengang. — 27) Harnblase, in Stadium H Kloake. — 28) Öffnung der Harnröhre, späterer Genitalporus. — 29) Herzschlauch. — 30) Pericardialhöhle. — 31) Dotter. — 32) Protocerker Flossensaum. — 33) Anlage der Rückenflosse. — 34) Anlage der Analflosse. — 35) Anlage der Hypuralia. — 36) Undifferenzierte Schwanzknospe. — 37) Schwanzdarm (bereits in Reduktion).

B. Freie Phase

1. *Äussere Charakterisierung der Stadien I—V.* (Vergl. hierzu Abb. 12 und 14, p. 428 + 430.)

Stadium I:

Der Unterkiefer ist annähernd so lang wie der Oberkiefer. Durch das starke Wachstum der ventralen Kopfpattie ist auch der „Unterkieferwinkel“ weiter nach vorne gerückt und liegt jetzt annähernd unter dem caudalen Linsenrand. Die Riechgruben sind dorsalwärts verlagert. Die Haftorgane persistieren nur noch als Rest auf einer Hautfalte unter den Augen.

Jetzt ist der Enddarm deutlich offen. Zu einer Zeit, da die Wirbelsäule noch gerade gestreckt nach hinten verläuft, machen sich im Flossensaum — besonders in der Gegend der Rücken- und Afterflosse — die ersten Anzeichen eines Abbaues bemerkbar. In der Schwanzflosse treten die Anlagen der Hypuralia äusserlich in Erscheinung. Die Brustflossen inserieren latero-ventral hinter dem Kiemenkorb, während die Bauchflossen als niedere Hautfalte imponieren. Weder die paarigen noch die unpaaren Flossen besitzen Flossenstrahlen. Der Dottersack und die Dottersackgefässe befinden sich in starker Reduktion.

Stadium II:

Der Unterkiefer überragt den Oberkiefer. Auf dem Stadium der vollständigen Atrophie der Haftorgane beginnt sich die Wirbelsäule leicht dorsalwärts abzubiegen. Dadurch geht die Schwanzflosse vom primären, protocerken in den transitorisch heterocerken Zustand über (ZIEGLER 1902, p. 162). In der nun ausgeprägt zweigipfligen Anlage der Hypuralia wird die spätere Homocerkie bereits angedeutet. Dorsal von der Wirbelsäule erscheinen die ersten Spuren der Epuralia, und über den Flossenträgern der unpaaren Flossen differenzieren sich die Flossenstrahlen.

Stadium III:

Der vormals schräg von caudo-ventral nach rostro-dorsal aufsteigende Unterkiefer wird flach gelegt und geht in die definitive Horizontallage über. Das letzte Stück der nun stark dorsalwärts

abgebogenen, von schmalem Flossensaum umgebenen Wirbelsäule endet noch frei und auf gleicher Höhe mit den Strahlen der stark verlängerten Hypuralia, deren zweigipflige, symmetrische Anlage durch intensiveres Wachstum der rostro-ventralen Partie sich zu einer asymmetrischen umgebildet hat. An der Schwanzflosse und vor den unpaaren Flossen persistiert der Flossensaum noch als schmale, niedere Leiste. Brust- und Bauchflossen weisen in dem häutigen Teil ihrer palettenförmigen Anlage Flossenstrahlen auf.

Stadium IV:

Das Ende der Wirbelsäule ist vollständig eingebaut und nur noch als stärkerer Strahl von den übrigen Flossenstrahlen der jetzt homocerken Schwanzflosse unterscheidbar. Die Hypuralia als Hauptelemente der symmetrischen Schwanzflosse überragen beträchtlich das aufwärtsgebogene Ende der Wirbelsäule. Vor der Rückenflosse und zwischen Bauchflossen und After existiert noch ein geringfügiger Rest des ehemals breiten, schönen Flossensaumes. An den Nasengruben bilden sich laterale Hautfortsätze aus, die medianwärts einander entgegenwachsen. Die rinnenförmig angelegten Aeste der Seitenlinien des Kopfes, so der Supraorbital- und der operculäre Teil des Operculomandibularkanal schliessen sich zu den definitiven Gruben, während der Ast des Unterkiefers in der Entwicklung hinter dem erstgenannten zurückbleibt und nur rinnenförmig persistiert. Der rechtwinklig abzweigende Supratemporalkanal und der Infraorbitalkanal sind noch nicht als Rinne nachweisbar.

Stadium V:

Durch den nun vollständig flach gelegten, horizontalen Unterkiefer rückt der „Unterkieferwinkel“ hinter den caudalen Augenrand und damit in seine definitive Lage. Der Flossensaum ist restlos abgebaut. In der Schwanzflosse ist äusserlich nichts mehr von dem eingebauten Ende der Wirbelsäule zu sehen.

Die bislang ventro-lateral inserierenden Brustflossen biegen medianwärts ein, sodass sie nicht mehr seitlich abstehen, sondern flach und nach hinten gerichtet der Bauchseite aufliegen. Inzwischen haben sich auch der Seitenlinienast des Unterkiefers sowie der Infraorbitalkanal zu Poren geschlossen und der Supratemporalkanal rinnenförmig angelegt. So bleibt er auch im definitiven Zu-

stand. Aus der medianen Vereinigung der beiden lateralen Hautfalten resultiert eine Hautbrücke, die die unpaare Nasenöffnung in eine vordere und hintere zerlegt (REINKE 1937). Die hypaxo-nische Rumpfmuskulatur, die sich in den Stadien II, III, IV immer weiter ventralwärts ausdehnte, hat die Leibeshöhle von beiden Seiten umwachsen.

Die grossen, relativ frei liegenden Augen werden allmählich in die Kopfmuskulatur eingebaut. Die in Stadium IV äusserlich noch gut sichtbare Thymus wird nun vom Operkelrand überdeckt.

2. Anatomisch-histologische Beschreibung der Stadien I—V.

(Vergl. hierzu Abb. 13, p. 429 und Abb. 15, p. 431.)

Stadium I:

Ein niedriger Saum von Zylinderzellen bildet den kümmerlichen Überrest einstmals hoher Faltenzüge der Haftorgane. Degeneration und Abstossen der Zellen nach aussen führten zu der weitgehenden Atrophie der Drüsen.

Der stark zusammengeschmolzene Dottervorrat findet sich noch ventral rechts vom Darm, besonders aber links caudal in der Darmkrümmung. In dem Kolloid der Thyreoidea treten chromophile Vakuolen auf.

Die Cleithralspangen sind ventral nahe zusammengerückt und nur noch durch eine dünne Gewebelamelle voneinander getrennt. In der einheitlichen, knorpeligen Extremitätenplatte der Brustflossen setzt durch partielle Entwicklung und Auflösung des Vorknorpels die Abgliederung der Radialia ein (SWIRSKI 1880, Stadium V).

Das Parasphenoid differenziert sich ohne knorpeliges Vorstadium aus dem Bindegewebe. Zu gleicher Zeit haben sich unmittelbar vor dieser Anlage unter dem Ethmoidalknorpel Bindegewebszellen konzentriert, die — rostral ein breites Lager bildend — sich lateral bis zu den Zahnanlagen ausdehnen, weiter caudal jedoch sich nur auf die mediane Zone beschränken. Diese Zellen dürfen wohl als Osteoblasten angesehen werden, die mit den von Odontoblasten gebildeten Zahnsockeln früh eine Knochenplatte liefern: den rostralen Teil des unpaaren Vomer. WALTHER (1883) lässt diesen vordersten Abschnitt einzig und allein aus der Vereinigung von Cementplatten (Zahnsockeln) entstehen und constatiert nur für den caudalwärts weiter wachsenden Vomer eine rein bindege-

weibige, von Zahnanlagen unabhängige Entstehung. Wahrscheinlich wurde der rasch vorübergehende, rein bindegewebige Charakter der rostralen, medianen Vomerzone infolge der gleichzeitigen Existenz von Zahnanlagen übersehen.

In Stadium I weisen einzelne Zahnanlagen des Ethmoidalknorpels bereits Dentinkegel auf, die durch Odontoblasten von den basal angelegten Zahnsockeln getrennt sind. Das Gewebe der Zahnanlagen geht kontinuierlich in die mediane, von Osteoblasten gebildete Verbindungszone über, in der noch keine Spur von Ossein sichtbar ist.

Zu dieser Zeit entstehen auch die Pharyngaea superiora und inferiora durch Vereinigung der an der Basis der Zahnkegel gebildeten Knochenplättchen. Auf dem dorsalen Teil der Kiemenbogen erscheinen weitere — in 2 Reihen angeordnete Zahnanlagen. Am oberen, dem Stylohyale nahen Ende des Hyoidbogens treten die 1. Osteoblastenherde der Radii branchiostegi in Erscheinung.

Ventral zwischen den Muskelbündeln des M. sterno-hyoideus differenziert sich das Urohyale, ein bei *Esox lucius* zu beträchtlicher Grösse heranwachsender Deckknochen.

In der Analflosse lassen sich bereits vorknorpelige Herde — die Anlagen der Radien (Somactidien) erkennen.

Die leicht zu Falten aufgeworfene Epidermis der medialen Zone der Bauchhaut hat sich zu 5—6 Schichten verdickt, in der die eigentümlichen, unregelmässig zerstreuten Blaszellen noch zahlreich vertreten sind. (Abb. 27, p. 437.)

Die supepidermale, homogene, basal von Bindegewebszellen durchsetzte Schicht des Coriums bildet ebenfalls zwei symmetrische Hügel, die gegen die Epidermis vorstossen.

Caudal vom Schultergürtel hat die hypaxonische Rumpfmuskulatur $\frac{4}{5}$ der Leibeshöhle umwachsen.

Die Pseudobranchie wird allmählich in der von MAURER (1884) beschriebenen Weise in das Munddach eingebaut. Die Verwachsung zwischen der Epitheldublikatur an der Basis der Pseudobranchie mit der des Gaumens ist erst im rostralen Bereich verwirklicht. Der weitaus grösste, vom Hyomandibulare abgerückte und der Schädelbasis genäherte Teil der Pseudobranchie ragt noch frei in die Mundhöhle.

Der Darm nimmt einen ausgeprägt s-förmigen Verlauf, indem der Magen ganz nach links, der Mitteldarm hinter dem Pylorus

ganz nach rechts verlagert ist und hinter der caudalen Dottergrenze in die Medianlinie übergeht.

Am Oesophagus ist ausser der Differenzierung der Sinnesknospen (SK) im Epithel der rostralen Zone keine nennenswerte Neubildung aufgetreten. (Abb. 24, p. 434.) Die in einzelne Fasern locker aufgeteilte Längsmuskulatur weist noch keine Querstreifung auf.

Auch der Magen begegnet uns in mehr oder weniger unveränderter Form. Seine in caudaler Richtung eingetretene Verlängerung ist ablesbar am Anteil der quergestreiften Muskulatur, die — vom Oesophagus her einziehend — nur noch durch die 1. Hälfte der Drüsenzone sich erstreckt und von innen nach aussen fortschreitend allmählich durch die glatte innere Ring- und äussere Längsmuskulatur ersetzt wird. Das Magenepithel geht hinter dem Pylorus unvermittelt in das einschichtige Zylinderepithel des stark erweiterten Mitteldarms über, dessen Zellen sich in einen helleren basalen und dunkleren apikalen Teil differenziert haben. Der länglich tropfenförmige Kern liegt unterhalb der dunkler gefärbten Zone. In den Zylinderzellen der Faltenfirste lassen sich kleinere und grössere Vakuolen erkennen — Anzeichen der Resorption?

Die Längs- und Querfalten nehmen in der üblichen Weise von vorne nach hinten an Höhe und Dichte zu. Die glatte Ringmuskulatur umfasst 1—3, die Längsmuskulatur 1—2 Schichten. Die sonst unmittelbar hinter der Bauchflosse liegende, kräftige Bauhin'sche Klappe kann bereits schon etwas caudalwärts verschoben sein — ein Anzeichen für das nun einsetzende, intensive Darmwachstum. Das entscheidend Neue des in seiner Konstitution nahezu unverändert gebliebenen Enddarms ist sein Durchbruch nach aussen. Das Schleimhautepithel reicht bis dicht unter die Körperoberfläche und setzt sich kontinuierlich in die Epidermis fort. Der Umschlagsrand der Körperhaut ist kaum eine Zelllänge tief, der ektodermale Anteil an der Bildung des Afters somit äusserst gering.

Die Milz liegt noch auf der linken Dorsalseite des Mitteldarmes etwa im 11./12. Muskelsegment, um die Länge zweier Myomeren vom rostral liegenden Pylorus entfernt.

Die dorsal median über dem Darmtractus sich hinziehende Schwimmblase durchmisst ungefähr die Hälfte der Strecke zwischen Brust- und Bauchflossenbasis.

Die Gallenblase ist rostralwärts vorgerückt und liegt mit ihrem vorderen Ende ungefähr in der Mitte zwischen Pylorus und Ansatzstelle der Brustflosse.

Stadium II:

Geringe Spuren des grosskernigen Dotterentoderms finden sich — von Pigmentzellen umgeben — im Darmbogen hinter dem Pylorus (ZIEGLER 1894); das Dottermaterial selbst ist restlos aufgebraucht.

Rücken- und Afterflossen besitzen nun gut ausgebildete Radien (Somactidien), die an ihrem oberen Ende caudalwärts abgelenkt sind und jeweils ein distales, kleines Knorpelstück aus der Grundmasse der Radialia abgesprengt haben.

Lepidotrichen sitzen als mesenchymatische Verdickungen den isolierten Knorpelstücken auf.

Den letzten 11 ventralen, zu Hypuralia umgebauten Wirbelbogen, von denen der 7. dichotom gegabelt ist, entsprechen auf der Dorsalseite der Chorda 7 Epuralia.

Die Teilung der Schwanzflosse in einen späteren dorsalen und ventralen Flügel prägt sich bereits in der Divergenz der Hypuralia aus, deren 1.—8. Strahl in ventraler, 9.—11. Strahl in dorsaler Richtung abbiegen. Sie bilden die Insertionsstelle der Lepidotrichen.

In der Bauchflosse erscheint die einheitliche, vorknorpelige Anlage des Beckens.

Nasalia und Frontalia sind als Deckknochen differenziert. Die knorpeligen Procoracoidteile der rechten und linken Schultergürtelhälfte sind soweit ventralwärts gerückt, dass sie sich beinahe berühren.

In der medianen Bauchhaut finden sich keine „Blasenzellen“ mehr. Der gesamte Rumpfdarm steht unter dem Zeichen intensiven Längenwachstums, das schliesslich zu echter Kniebildung und dadurch zum Auftreten eines auf- und absteigenden Mitteldarmastes führt. Die Ringfalte des stark gestauchten und deshalb verbreiterten Enddarmes kommt dabei weit hinter die Basis der Bauchflosse zu liegen.

Das histologische Bild des Oesophagus hat sich nicht merklich verändert. Die nun deutliche Querstreifung aufweisenden Fasern der Längsmuskelschicht ziehen zusammen mit der nach aussen sich

anschliessenden Ringmuskelschicht bis zum Anfang der Drüsengzone des Magens. Der weitaus grösste Teil des letzteren, der sich stark erweitert und zu einem spindelförmigen Sack verlängert hat, besitzt nun glatte Muskulatur. Unter den Tubuli der Magendrüsen, die den Hauptteil der Magenwand bilden, liegt die lockere dünne und noch wenig differenzierte bindegewebige Schicht, an die sich die mächtige, innere Ring- und 2—3 Zellschichten dicke, äussere Längsmuskelschicht anschliesst.

Der Übergang des Pylorusepithels in die Mucosa des Mitteldarmes ist durch eine Zone stark vakuolisierter Zylinderzellen charakterisiert, deren apikaler Teil keinen Stäbchensaum besitzt. Letzterer erscheint erst bei den typisch hohen, schmalen Zylinderzellen des Mitteldarmes. Zahlreiche, sehr grosse Zellen sind im Lumen des ganzen Mitteldarmabschnittes anzutreffen, wahrscheinlich ausgewanderte Lymphzellen, die — haben sie einmal die Epithelgrenze überschritten — ihre Bedeutung für den Organismus verloren haben (OPPEL 1897). Eine dünne Lage spindelförmiger Zellen, die noch in Differenzierung begriffene, für Mittel- und Enddarm typische *Muscularis mucosae*, grenzt das lockere, subepitheliale Bindegewebe von der Schleimhaut ab.

Die Zylinderzellen des Enddarms unterscheiden sich insofern von denen des Mitteldarms, als sie etwas höher sind und eine stärker vakuolierte, wenig oder nicht färbbare, distale Partie besitzen, von der sich der proximale, den Kern enthaltende Zellabschnitt dunkel abhebt. Im letzten Drittel des Enddarms ist die Mucosa auch zur Querfaltenbildung übergegangen.

Die dem Pylorus angelagerte Milz rückt weiter ventralwärts.

Die Schwimmblase durchmisst $\frac{2}{3}$ der Strecke zwischen Brust- und Bauchflossenbasis und wird von dem sich verlängernden Magen allmählich eingeholt.

Die Harnblase vergrössert sich stark und stösst links vom Enddarm rostralwärts vor. Sie steht mit den beiden Uretern durch einen aus der Vereinigung ihrer caudalen Abschnitte entstandenen, unpaaren Gang in Verbindung. Die Gallenblase nimmt ihre definitive Lage rostral vor dem Knie des Mitteldarmes ein und endet auf gleicher Höhe mit dem rostralen Rand der Schwimmblase.

Durch das intensive Wachstum des gesamten Rumpfdarmes hat sich nun die Mündungsstelle des Ductus choledochus um ein beträchtliches Stück vom Pylorus entfernt.

Stadium III:

Vor dem gut entwickelten Maxillare differenziert sich das Praemaxillare als Deckknochen. In der basalen, knorpeligen Extremitätenplatte der Brustflossen vollzieht sich die Abgliederung in die definitiven 5 Radialia.

Die Lepidotrichen der paarigen wie unpaaren Flossen weisen Spuren der Verknöcherung auf. Da das Brustflossenskelett bei *Esox lucius* nur aus dem paarigen Basipterygium besteht und keine Radien ausgebildet werden (SEWERTZOFF 1934), sitzen die Lepidotrichia unmittelbar dem hinteren Rande des Pelvis auf.

Das Knie der voll ausgebildeten Darmfalte des Mitteldarmes, dessen aufsteigender, noch stark erweiterter Ast in der Gegend der Bauchflossen beginnt, reicht bis dicht hinter die Basis der Brustflosse. Die Wandung des Magens ist durch die nun einsetzende Differenzierung des subepithelialen Bindegewebes in die definitiven Schichten der Propria und Submucosa ausgezeichnet. Jetzt gelangen auch Pylorusdrüsen zur Ausbildung. Die starke Vakuolisierung der Epithelzellen, die im vorigen Stadium auf die Pylorus/Mitteldarmgrenze beschränkt blieb, hat nun den ganzen letzten Abschnitt des Magens ergriffen. Ein Schleimpfropf schliesst den apikalen, vakuolenreichen Zellabschnitt gegen das Darmlumen ab.

Die durch das intensive Wachstum bedingte caudale Verlagerung der Bauhin'schen Klappe ist durch Rückkehr der letzteren in die Gegend der Bauchflosse wieder ausgeglichen und ihre ursprüngliche wie endgültige Lage damit erreicht.

Der Enddarm setzt sich durch beträchtliche Erweiterung seines Darmlumens vom Mitteldarm ab. Hinter der Bauhin'schen Klappe und im letzten Drittel des Enddarmes an der Übergangsstelle zu kubischem Epithel ist die Mucosa auch zu starker Vakuolisierung übergegangen, hat — ähnlich dem Pylorusepithel — ganze Faltenpartien ergriffen und deren Epithel zu grossen, blasigen Zellen aufgetrieben (Abb. 26, p. 437). Stellen diese Zonen Herde besonders intensiver Bildung von Becherzellen dar? Es könnte diese Lösung für den Enddarm vielleicht zutreffen, für den Pylorus und letzten Magenabschnitt jedoch nicht, werden dort doch nie Becherzellen ausgebildet. Es besteht jedoch — mit Ausnahme des Schleimpfropfes der Pyloruszellen — eine grosse Übereinstimmung im Aussehen und in der Reaktion dieser vakuolisierten Zellen auf

Reagenzien. Der blasige Zellabschnitt lässt sich bei gewöhnlicher Färbung mit Haematoxylin DELAFIED/Eosin oder Haematoxylin HEIDENHAIN/Lichtgrün nicht anfärben. Auch bleiben die „Blasenzellen“ des Pylorusgebietes bei Anwendung der Azanfärbung (wie es in Stadium IV geschehen ist) ungefärbt, (vorausgreifend sei vermerkt, dass der Enddarm zu dieser Zeit keine derartigen vakuolisierten Zellen mehr besitzt).

Die Milz liegt nun vollständig ventral am Pylorus in der Gegend der Bauchflosse. Das caudale Ende der Schwimmblase hat sich auch bis in diese Region ausgedehnt. Die seitliche Ausstülpung der Harnblase erreicht $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ der Länge des Enddarmes.

Im Vergleich zu Stadium II hat sich die Strecke zwischen Pylorus und der Mündung des Ductus choledochus um ein bedeutendes Stück noch verlängert.

Stadium IV:

Eine hohe, mediane Längsfalte aus indifferentem Epithel erhebt sich vom Boden der Riechgrube gegen die beiden, medianwärts einander entgegenwachsenden Epidermiskuppen, die sich zu vereinigen trachten. REINKE (1937) hebt diese Art der Bildung einer vorderen und hinteren Nasenöffnung als einen besonderen bei *Esox lucius* und *Salmo salar* verwirklichten Typus hervor. Im Innern der Chorda (in der Gegend des vorderen Rumpfes) finden sich die ersten Auflösungsbezirke.

Zahnanlagen der Mundhöhle treten mit den Praemaxillaria in Verbindung. Auch die unpaaren Copulae — mit Ausnahme des Glossohyale — besitzen vereinzelt Zahnbildungen.

Dorsal am Kopf und dorso-lateral an den Rumpfseiten ist im bindegewebigen Teil der Cutis die Schuppenbildung im Gange. Die Schleimkanäle der Seitenlinie — so der Operkelast, der dorsale Augenast und Unterkieferast — werden von den zugehörigen Knochen rinnenförmig oder total umschlossen. Der ventrale Augenast (Infraorbitalkanal) ist nur in Sinnesknospen differenziert.

Das zuweilen 6-schichtige Epithel der Mundhöhle ist stark gefältelt und durchsetzt von zahlreichen Becherzellen und Sinnesknospen, die sich zwischen den Zähnen, auf dem Glossohyale und den Kiemenbogen finden.

Die Pseudobranchie ist in ihrem letzten, caudalen Drittel noch nicht mit dem Epithel und Bindegewebe des Munddaches ver-

wachsen. Das mehrschichtige, aus polygonalen bis flachen Zellen sich aufbauende Epithel des Oesophagus wird annähernd in ganzer Höhe von Schleimzellen durchsetzt und grenzt unmittelbar an die noch spärlich entwickelte Propria, die sich direkt unter der Mucosa hauptsächlich aus zirkulär verlaufenden Bindegewebsbündeln zusammensetzt und sich weiter aussen nach allen Richtungen zerstreut.

Quergestreifte Längsmuskelfasern ziehen — eingebettet in intermuskuläres Bindegewebe, das kontinuierlich in die Propria übergeht — bis tief in die Primärfalten ein. Sekundärfalten sind frei von Längsmuskulatur, der sich nach aussen eine ziemlich mächtige Ringmuskelschicht anschliesst.

Die letzten quergestreiften, oesophagealen Muskelfasern finden sich ungefähr auf gleicher Höhe mit dem „Knie“ des Mitteldarmes.

Das Schleimhautepithel wird allmählich zylinderförmig und weist bis zum Beginn der Drüsenzzone des Magens Becherzellen auf. Direkt im Anschluss an die Mucosa des Magens findet sich zwischen den tubulösen Drüsen lockeres, reticuläres Bindegewebe, das jedoch zugunsten des fasrigen Bindegewebes der Propria stark zurückgedrängt ist. Nur unter den grossen Faltenzügen des Magens existiert eine ausgeprägte, lockere Submucosa, in unmittelbarem Kontakt zur Propria. Eine Muscularis mucosae fehlt (Abb. 22, p. 435). Den Übergang des Pylorusepithels in die Schleimhaut des Mitteldarmes charakterisieren noch immer vakuolisierte Epithelzellen, deren apikaler Teil mit Azan ungefärbt bleibt.

Die Mucosa des Mittel- und Enddarmes ist frei von diesen Zellen, aber reich übersät von vollausgebildeten, sezernierenden Becherzellen. Sie sitzt einer schwach erkennbaren Muscularis mucosae auf. Die noch sehr gering entwickelte Submucosa ist durch eine charakteristische Membrana compacta gegen die aus reticulärem Bindegewebe bestehende Propria abgegrenzt, teilt sich dann in lockere Faserbündel auf, an die sich die cirkuläre und longitudinale Muskulatur anschliesst.

Während der aufsteigende Ast durch sehr niedere Faltenzüge ausgezeichnet ist (Abb. 23, p. 435), kennzeichnen den absteigenden Ast doppelt bis dreifach so hohe Falten (Abb. 24, p. 436).

Die Wandung des Enddarmes unterscheidet sich prinzipiell nicht von der des Mitteldarmes (Abb. 25, p. 436). Nur die Mucosa gibt einen etwas anderen Aspekt. Während die Zylinderzellen des

Mitteldarmes aus körnigem, mit Azan gleichmässig rötlich sich anfärbendem Plasma bestehen, weist der apikale Teil der etwas höheren Zylinderzellen des Enddarmes tiefblaue, in hellen Vakuolen gelegene Körnchen auf. Der basale, den Kern enthaltende rötliche Zellabschnitt hebt sich dunkler von der distalen Partie ab.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der Aufbau der Wandung des gesamten Darmtractus den Verhältnissen eines adulten Hechtes entspricht.

Stadium V:

Der sehr grosse, spindelförmige Magen, dessen Pylorus unter der Basis der Bauchflosse liegt, nimmt den Hauptteil der Bauchhöhle ein.

Der Mitteldarm bildet jetzt den dünnsten Abschnitt des ganzen Darmes. Die Bauhin'sche Klappe, hinter der sich der Enddarm beträchtlich erweitert, liegt caudal von der Bauchflosse auf gleicher Höhe mit dem Hinterrand der Milz, der vom rostralen Ende der Harnblase berührt wird.

Die Propotionen und Lagebeziehungen der inneren Organe zueinander entsprechen nun nahezu denjenigen eines Adulttieres.

3. Verhalten des Junghechtes in dieser Periode.

Kurz nach der Füllung der Schwimmblase mit Luft, wenn die Hechte im Wasser „stehen“, setzen auch die 1. Fressversuche ein. Die Art der Erfassung der Beute unterscheidet sich von Anfang an in nichts von der des erwachsenen Hechtes, nur ist die Zielsicherheit noch sehr gering. Im Hinterhalt lauernd, verfolgt der Junghecht mit lebhaftem Augenspiel seine Beute und stösst unter Entspannung der vorher s-förmig gekrümmten Wirbelsäule blitzschnell nach vorne. Die Beute wird unzerkleinert verschlungen.

Nach SCHÄPERCLAUS (1933) erschwert diese Art Fressgewohnheit, verbunden mit der Endständigkeit des Maules, die Verwertung tief im Schlamm steckender Nährtiere und verweist die Fische mehr auf die freisitzenden und beweglichen Formen. Schon sehr früh (bereits in Stadium II) tritt Kannibalismus auf.

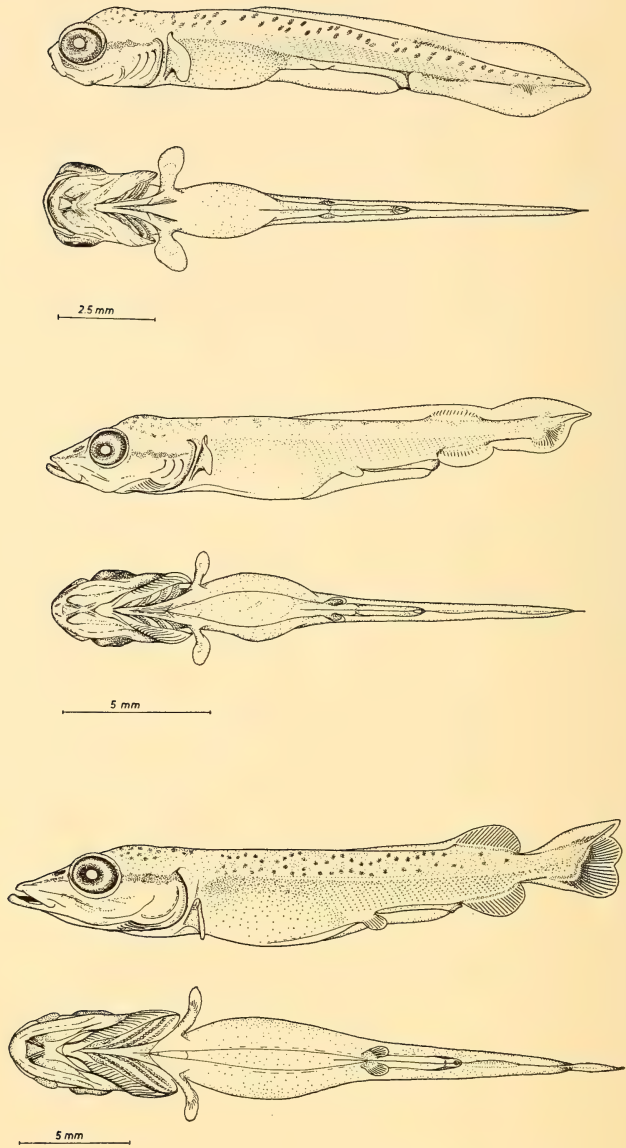


ABB. 12.

Morphologie der Stadien I—III der freien Phase.

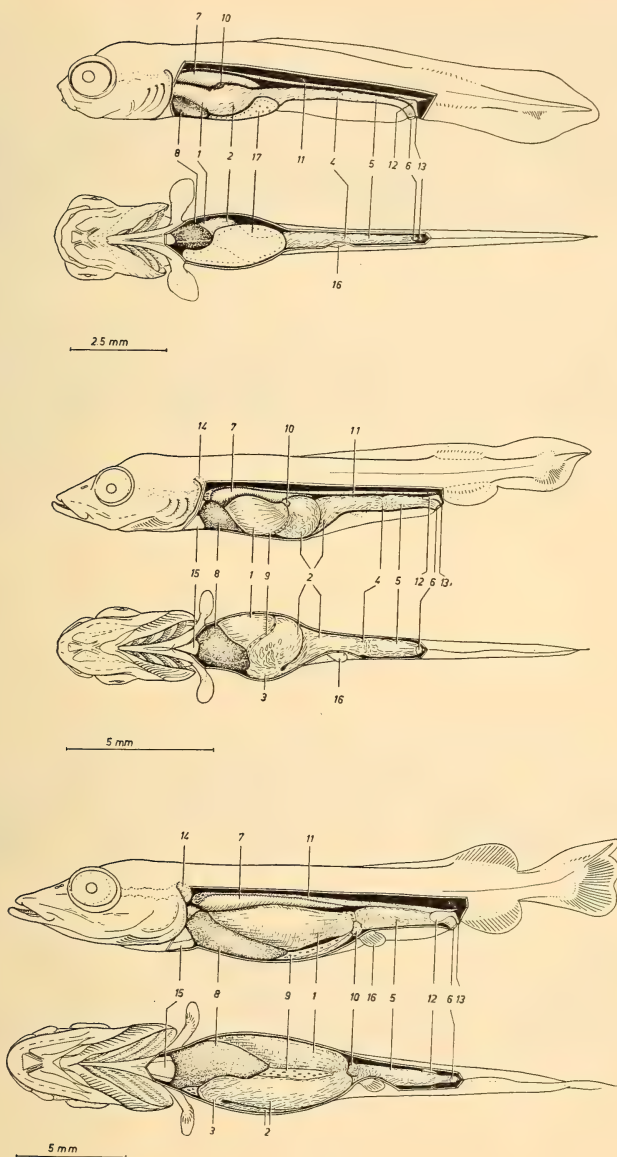


ABB. 13.

Anatomie der Stadien I—III der freien Phase.

- 1) Magen. — 2) Mitteldarm. — 3) « Knie » des Mitteldarmes. — 4) Ringfalte. — 5) Enddarm. — 6) Anus. — 7) Schwimmblase. — 8) Leber. — 9) Pancreas. — 10) Milz. — 11) Niere. — 12) Harnblase. — 13) Oeffnung der Harnröhre, späterer Genitalporus. — 14) Thymus. — 15) Herz. — 16) Bauchflosse. — 17) Dotter.

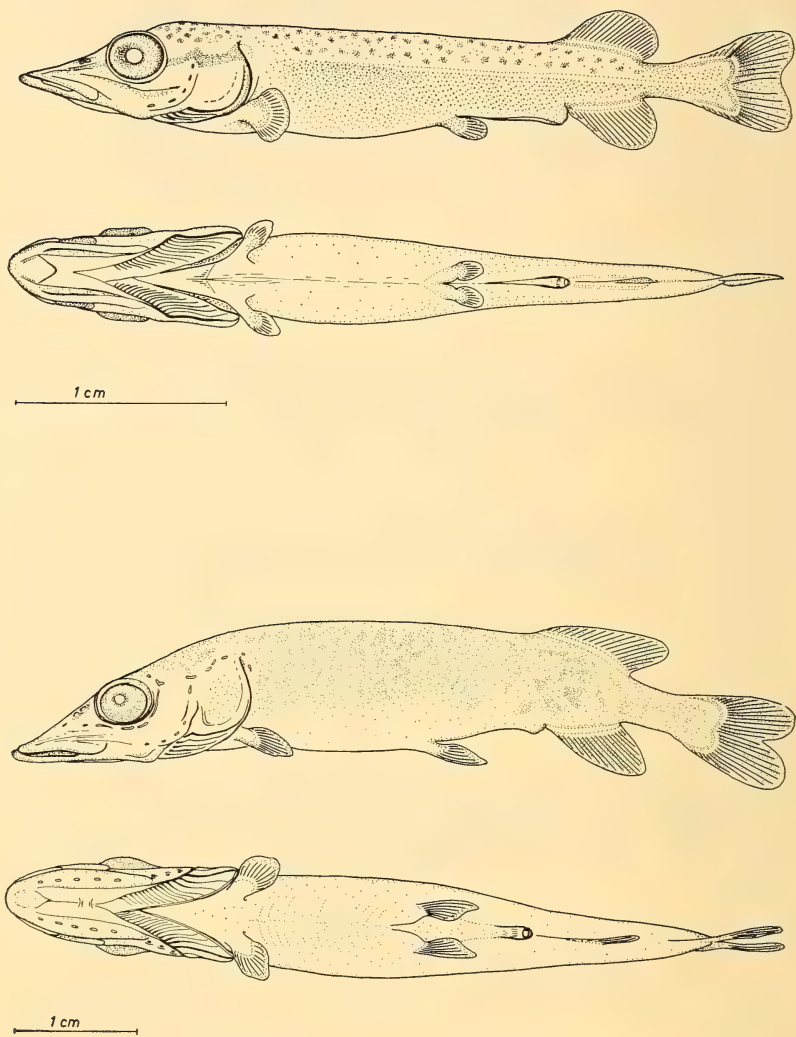


ABB. 14.
Morphologie der Stadien IV und V der freien Phase.

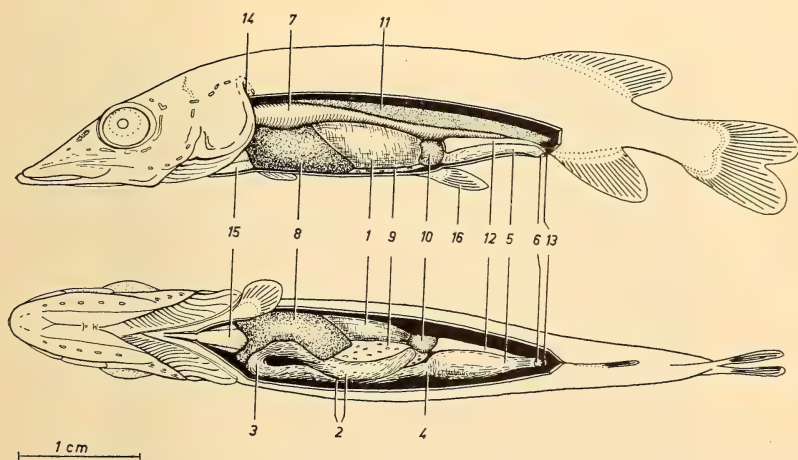
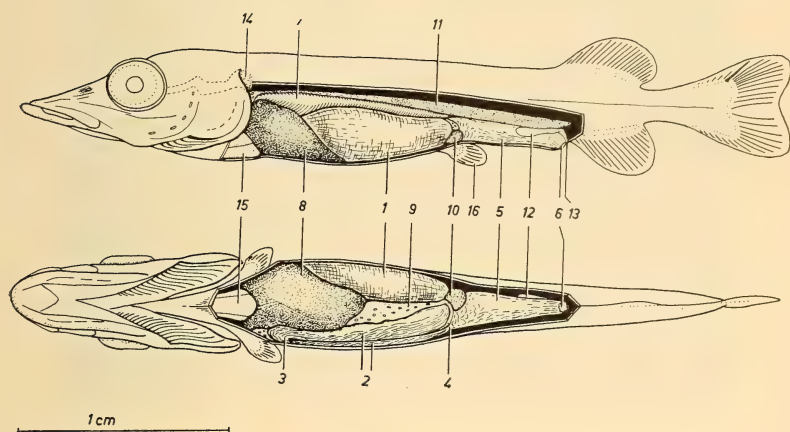


Abb. 15.

Anatomie der Stadien IV und V der freien Phase (Zeichenerklärung s. Abb. 13).



ABB. 16.

Rostraler Rumpfdarm, transversal, aus Stadium 3 früh.
Mucosa in Vorphase. (Mikrophoto.) Vergr. 380: 1.

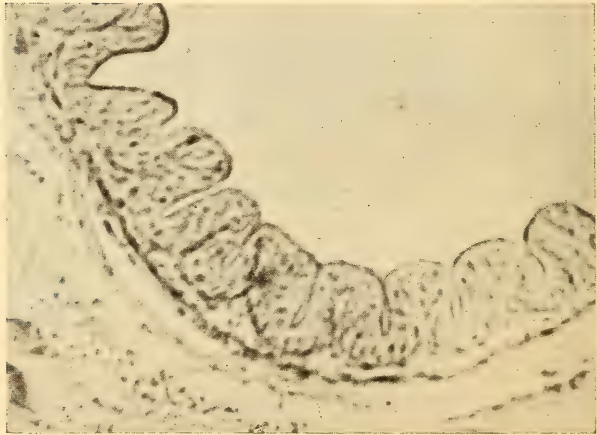


ABB. 17.

Mitteldarm mit echten Längsfalten, transversal, aus Stadium 3 spät.
(Mikrophoto), Vergr. 300: 1.

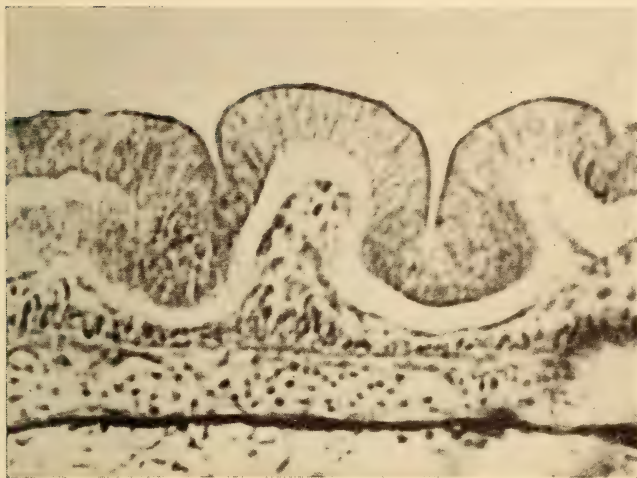


Abb. 18.

Rumpfdarm mit echten Querfalten, sagittal, aus Stadium 4 (Mikrophoto),
Vergr. 320: 1.

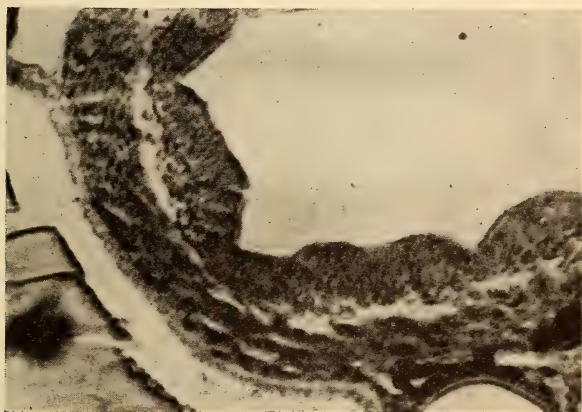


Abb. 19.

Magenepithel in Vorphase, noch ohne Fundusdrüsen, Stadium 3 spät,
transversal (Mikrophoto), Vergr. 290: 1.



ABB. 20.

Magenepithel, Fundusdrüsen (Fd) in Bildung, Stadium 4, transversal
(Mikrophoto), Vergr. 400: 1.



Abb. 21.

Sinnesknospe (SK) im Oesophagusepithel, Stadium IV, transversal
(Mikrophoto), Vergr. 540: 1.

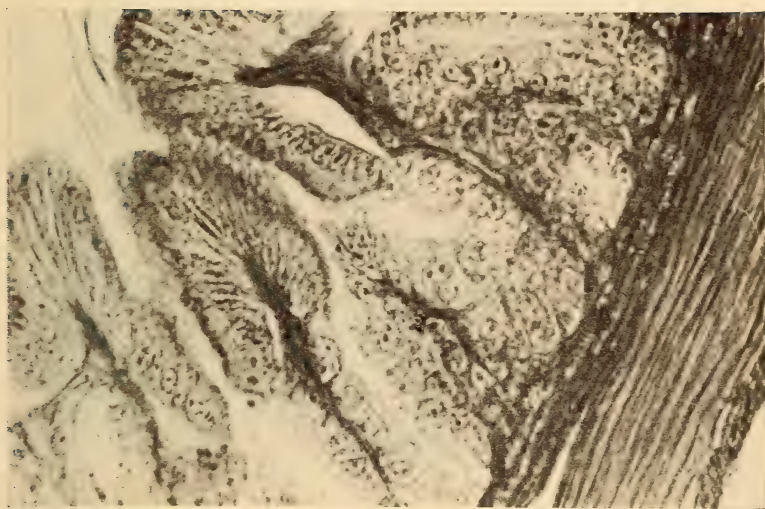


ABB. 22.

Magenwand, transversal, Stadium IV (Mikrophoto), Vergr. 500: 1.

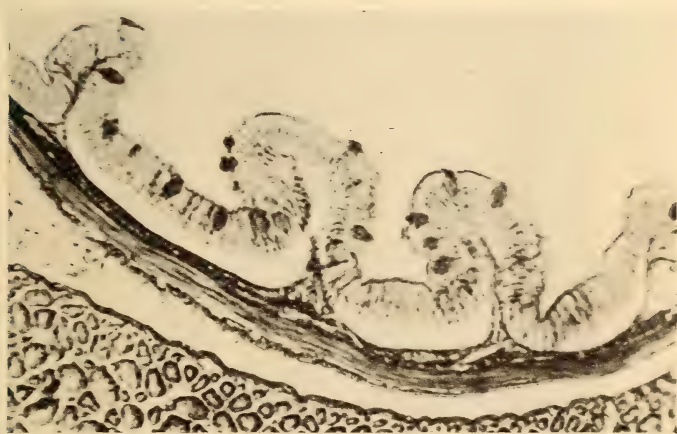


ABB. 23.

Mitteldarm, aufsteigender Ast, transversal, Stadium IV (Mikrophoto),
Vergr. 185: 1.

Membrana
comptacta



ABB. 24. — Mitteldarm, absteigender Ast, transversal, Stadium IV (Mikrophoto), Vergr. 180: 1.



ABB. 25. — Enddarm, sagittal, Stadium IV (Mikrophoto), Vergr. 500: 1.

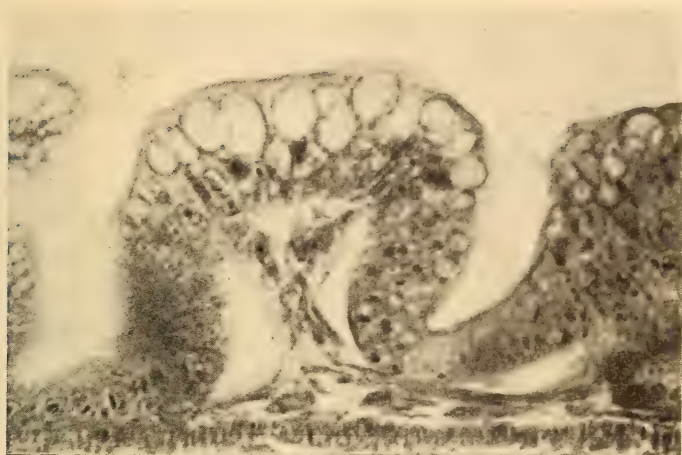


ABB. 26.

Vakuolisiertes Enddarmepithel, sagittal, Stadium III (Mikrophoto), Vergr. 500 : 1

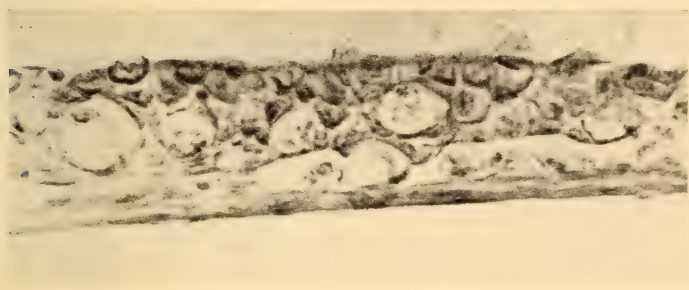


ABB. 27.

Mediale Zone der Bauchhaut mit «Blasenzellen», Stadium I, sagittal (Mikrophoto), Vergr. 550: 1.



ABB. 28.

Epithel der Haftorgane, transversal, Stadium K (Mikrophoto), Vergr. 500: 1.

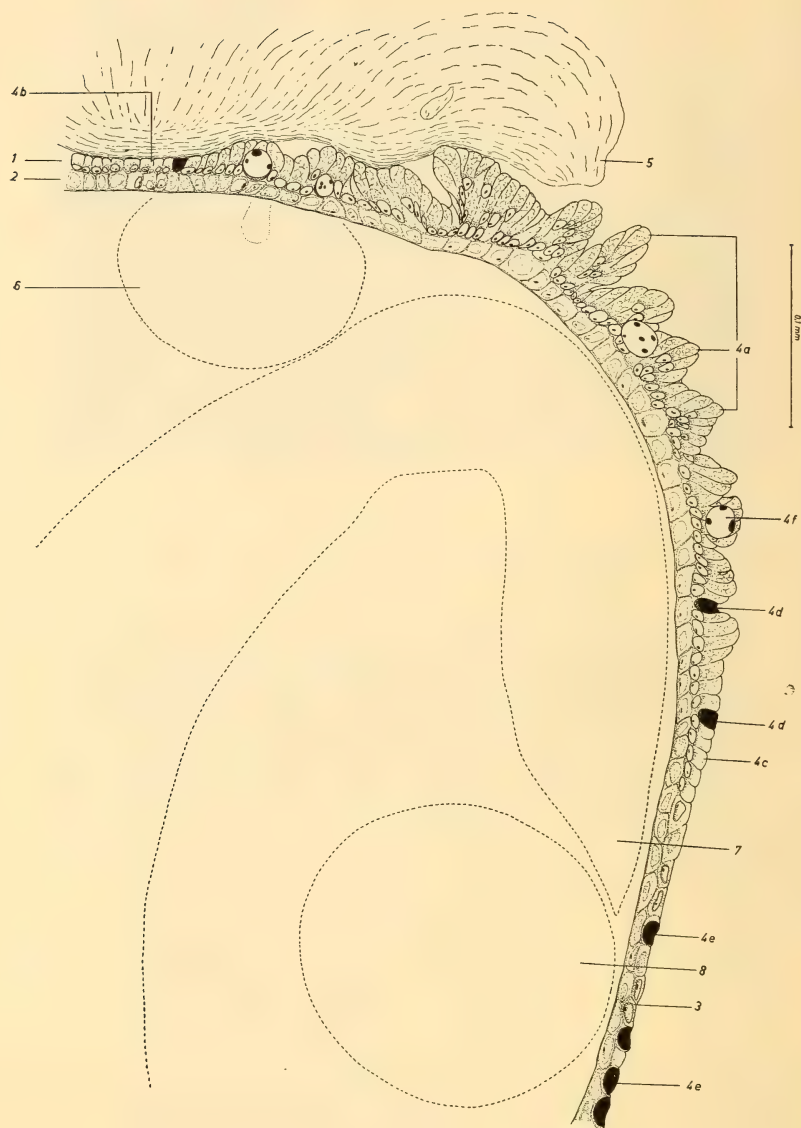


ABB. 29.

Transversalschnitt durch das rechte Haftdrüsenpolster, Stadium 2.

1) Deckschicht der Epidermis. — 2) Sinnesschicht der Epidermis. — 3) Normale Epidermis. — 4 a) kolbenförmige Zylinderzellen des Haftdrüsenepithels. — 4 b) kubische Zylinderzellen des Haftdrüsenepithels (Mittelfeld). — 4 c) kubische Zylinderzellen der lateralen Ränder des Haftdrüsenepithels. — 4 d) Becherzellen des Haftdrüsenepithels. — 4 e) Becherzellen der normalen Epidermis. — 4 f) dotterhaltige Vakuolen. — 5) abgesondertes Haftsekret. — 6) Riechgrube. — 7) Augenbecher. — 8) Linse.

III. RELATIVES WACHSTUM VERSCHIEDENER KÖRPERABSCHNITTE DES JUNGHECHTES WÄHREND DER POSTEMBRYONALPHASE.

Im Anschluss an die auf morphologisch und anatomisch-histologischem Wege erzielte Erfassung der Veränderungen während der Ontogenese von *Esox lucius* ist es von nicht unbedeutendem Wert, die Formwandlungen, die der Organismus während dieser Entwicklung durchläuft, auch mit den Methoden einer dynamischen Morphologie zu untersuchen, ist doch die organische Form (nach v. BERTALANFFY 1951) in wesentlichem Ausmass nichts als ein Ausdruck gerichteter Wachstumsprozesse. Da bestimmte Teile mit grösserer Geschwindigkeit wachsen als andere, ist die Gestalt des Tieres wesentlich durch das Verhältnis der Wachstumsgeschwindigkeiten der einzelnen Teile nach den verschiedenen Richtungen des Raumes bestimmt und kann damit einer dynamischen Morphologie erschlossen werden.

Das einfache Prinzip der Formwandlung besteht darin, dass die Wachstumsgeschwindigkeit eines bestimmten Teiles y zu derjenigen eines anderen Teiles oder des Gesamtkörpers x in einem konstanten Verhältnis steht, was sich mit der allometrischen Wachstumsformel

$$y = bx^a \quad \text{oder} \quad \log y = \log b + a \log x$$

ausdrücken lässt.

y = Grösse des jeweiligen Organs (in Längen- oder Gewichtseinheiten).

x = entsprechende Körper- oder Gesamtkörpergrösse.

b = Integrationskonstante, die den Wert von y für $x = 1$ angibt.

a = charakteristische Konstante der Allometrie, die das Verhältnis der Wachstumsgeschwindigkeiten von y + x angibt. Sie ist gekennzeichnet durch den Neigungswinkel, den die bei logarithmischer Auftragung gebildete Gerade mit der Abszisse bildet ($a = \tan \alpha$) (v. BERTALANFFY, 1951).

In vorliegendem Fall wurden nur Längenmessungen verschiedener Körperstrecken ausgeführt, über deren Definition Abschnitt c des Kapitels „Material und Technik“ informiert.

Die erhaltenen Werte der Körpermasse 2–29 (= y Werte) wurden gegen die Gesamtkörperlänge 1 (= x Wert) bilogarithmisch

aufgetragen und ergaben jeweils verschiedene Gerade, deren Neigungswinkel a ($= \tan \alpha$) bestimmt und in Tabelle 5 $a-c$, pp. 462-464, zusammengestellt wurden.

Die Bestimmung von a erfolgte durch Ermittlung der jeweiligen Winkelgrade (mittels eines Winkelmessers) und deren Übertragung in die entsprechenden numerischen Werte, die leicht aus einer Logarithmentafel zu ersehen waren.

Wie bereits in Abschnitt c (Material und Technik) erwähnt wurde, liegen den allometrischen Kurven der Serien I, II, III Mittelwerte zugrunde, deren Streuungen und Variationskoeffizienten für Serie I und II in der angegebenen Weise berechnet wurden. Sie sind in Tab. 4 $a-f$, pp. 458-461, zusammengestellt. In der grossen Variabilität der Streuungswerte kommt der Einfluss der verschiedensten Faktoren (Ernährung, Temperatur, Raumdichte, Hormone, Erbfaktoren, usw.) auf das Wachstum der untersuchten Fische zum Ausdruck. So deutet der beträchtliche Anstieg der Streuungswerte $\sigma_{\bar{x}}$ (spez. in Serie I) bei zunehmendem Alter der Fische darauf hin, dass die Oscillation der Einzelwerte wohl in stärkstem Masse durch die Ernährungsverhältnisse bedingt ist (worauf EINSELE 1948 ganz allgemein schon hinwies). Auch beim Aufwuchs in der freien Natur konnten sehr erhebliche Längsstreuungen festgestellt werden, wie aus dem Vergleich der aus der Literatur bekannten Werte hervorgeht.

So gibt für *Esox lucius*

WILLER	(1924) im 1. Jahr	eine Gesamtlänge von 15—20 cm
MAYENNE	(1925) in 6 Monaten	„ „ „ 10—20 cm
HOPKE	(1931) im 1. Jahr	„ „ „ 40 cm
SCHÄPERCLAUS	(1933)	
	i. Herbst d. 1. Js.	„ „ „ 10—30 cm
EINSELE	(1948) in 5 Monaten	„ „ „ 31 cm
NAWRATIL	(1954) im 1. Jahr	„ „ „ 25—47 cm an.

Ein schlechtes Wachstumsjahr kann durch besseres Wachstum im nächsten oft ausgeglichen werden, was besagt, dass das Wachstum bei Fischen weniger an das Alter als an die Lebensbedingungen geknüpft zu sein scheint (WURMBACH 1951).

Analyse der allometrischen Kurven.

(vgl. hierzu die Abb. 30—61, pp. 453-457).

L 2:

Das Wachstum dieser Teilstrecke zeichnet sich in den ersten Stadien der Anheftungsphase durch eine schwache negative Allometrie aus ($a = 0,3$). Mit Beginn des Stadiums 4, d. h. zu einer Zeit, da Mund und Kiemen geöffnet sind, setzt eine starke Erhöhung der Wachstumsgeschwindigkeit ein, die zu einer positiven Allometrie von $a = 2,0$ führt und während des Stadiums I der freien Phase gleichmässig andauert. Mit Beginn des Stadiums II ist in der Ontogenese der Kopf- und Mundregion jener Zustand erreicht, da der Unterkiefer die Kopfspitze bildet, die Teilstrecke L 2 allmählich in L 3 übergeht und die Wachstumsgeschwindigkeiten der nächsten Phasen denen von L 3 entsprechen.

L 3:

Mit einem etwas schwächeren, negativ allometrischen Wachstum ($a = 0,2$) als L 2 zeichnet sich das Wachstum dieser Teilstrecke aus. Bereits in Stadium 3 der Anheftungsphase tritt jedoch eine erhebliche Steigerung der Wachstumsgeschwindigkeit ein; die Zone erreicht durch die — bis zum Ende des Stadiums II der freien Phase — unveränderte Wachstumskonstante $a = 2,5$, dass der Unterkiefer länger als der Oberkiefer und somit zur eigentlichen, definitiven Kopfspitze wird; L 3 ist mit L 2 identisch. Mit Erreichung dieses Zieles fällt auch die Wachstumsintensität stark ab, bleibt bis zu Beginn des Stadiums IV noch schwach positiv allometrisch ($a = 1,3$), um dann in isometrisches Wachstum ($a = 1,0$) umzuschlagen und — wie aus dem Vergleich mit Adulttieren zu entnehmen ist — diese Intensität unverändert beizubehalten.

L 4 und L 7:

Die Wachstumskurve der Teilstrecke L 4 wird durch das Verhalten des Unterkiefers einerseits, durch das Verhalten des Operkels andererseits geprägt. Das in den ersten zwei Stadien der Anheftungsphase negativ allometrische Wachstum ($a = 0,6$) wird zu Beginn des dritten Stadiums von einer stark positiven Allometrie von $a = 3,3$ abgelöst, die bis zum Stadium II der freien Phase andauert, dann auf $a = 1,4$ abfällt und von Stadium IV an in isometrisches Wachstum übergeht.

Die für Serie III nicht von der Unterkieferspitze sondern von der Kopfspitze aus gemessene Teilstrecke L 4 weist zunächst eine geringere Wachstumsintensität von $a = 2,0$ auf, erreicht aber wie L 2 und L 3 mit Beginn des Stadiums II der freien Phase die gleichen Werte wie Serie I und II.

Interessant ist das Verhalten des Operkelwachstums (der Serie I und II), dessen zunächst positive Allometrie ($a = 2,5$) die — gegenüber L 3 — etwas höher liegenden Werte der zwei letzten Stadien der Anheftungsphase zum Teil mitbedingt, mit Beginn der freien Phase aber unvermittelt in isometrisches Wachstum ($a = 1,0$) umschlägt und dies bis zum Stadium V beibehält. Abgesehen von der Teilstrecke D 18 erreicht diese Körperzone am frühesten ein zur Gesamtkörperlänge proportionales, den Adulttieren entsprechendes Wachstum.

Die den Serien I und II nicht ganz identische Zone L 7 der Serie III weist in der ersten Wachstumsetappe eine etwas höhere Wachstumsintensität ($a = 3,3$) auf und fällt bereits im Stadium 4 der Anheftungsphase in ein annähernd isometrisches Wachstum ($a = 1,15$).

(SPRENGER 1945 fand für die gleiche Zone Werte von $a = \text{ca } 3,2$ und $a = 1,0$.)

L 5:

Ein ganz anderes Bild ergibt sich nun hier. Durch Aenderungen der Wachstumsintensität, die sich in den Knickstellen der Geraden kundtun und zum gleichen Zeitpunkt wie bei L 3 und L 2 eintreten, zerfällt L 5 zwar ebenfalls in 4 deutlich voneinander unterscheidbare Etappen. Doch kommt es niemals zu negativer Allometrie. Diese Körperstrecke zeichnet sich vor allen anderen durch ein anfänglich äusserst intensives Wachstum aus ($a = 14,3$) das sich in der zweiten Etappe etwas verlangsamt ($a = 5,7$ bzw. $= 4,3$), mit Beginn des Stadiums II der freien Phase schwach positiv allometrisch wird ($a = 1,9$), um in Stadium II in isometrisches Wachstum zu verfallen. Die merkliche Abnahme der Wachstumsintensität kolligiert mit dem Zeitpunkt der Existenz eines oberständigen Maules.

V 10 und V 11:

Analysiert man die Teilstrecke L 5 durch Zerlegung in zwei gesonderte Messstrecken V 10 und V 11, so zeigt sich beim Gegen-

überstellen der korrespondierenden Wachstumskonstanten, dass jede Teilstrecke ein eigenes, voneinander unabhängiges Wachstum aufweist, das bei V 10 in vier, bei V 11 in drei Wachstumsetappen zerfällt, deren Beginn und Dauer nicht miteinander übereinstimmen.

Die Teilstrecke V 10 wächst zunächst mit sehr hoher, für das Unterkieferwachstum besonders charakteristischer Intensität ($a = 6,3$), vermindert sie aber rasch auf $a = 2,5$ bis zur Phase II, um sie von da an noch mehr zu verringern ($a = 1,5$) und mit Beginn des Stadiums III der freien Phase in isometrisches Wachstum überzugehen.

Teilstrecke V 11 weist anfänglich bis zu Stadium I eine unveränderte Wachstumskonstante $a = 3,5$ auf, die auf ein zunächst langsames, dann schnelleres Wachstum gegenüber V 10 schliessen lässt. In der folgenden Etappe, in der die Wachstumsgeschwindigkeit auf $a = 1,2$ herabsinkt, lässt sich ein ähnlicher Wechsel von verzögertem und intensiverem Wachstum gegenüber V 10 feststellen. Erst mit dem Übergang von V 11 in schwach negative Allometrie ($a = 0,8$) gewinnt das Wachstum der Teilstrecke V 10 die Oberhand. Wie jedoch aus dem Vergleich mit Adulttieren hervorgeht, bleibt dieses Verhältnis kein endgültiges, da auch V 11 — zu einem hier nicht mehr erfassten Zeitpunkt — in isometrisches Wachstum übergeht.

L 6:

Einen der Teilstrecke L 5 ähnlichen, aber nicht ganz so steilen Verlauf nimmt die Wachstumskurve dieser Zone und zeichnet sich durch die ebenfalls sehr hohe, aber nur auf das Stadium 2 der Anheftungsphase sich beschränkende Wachstumskonstante $a = 9,5$ aus. Bereits in Stadium 3 — zur Zeit des Munddurchbruchs und der geöffneten Kiemenspalten — verringert sich die Intensität auf $a = 3,0$, die bis in die Mitte des Stadiums II der freien Phase beibehalten wird, in dessen Verlauf das Wachstum in ein schwach positiv allometrisches ($a = 1,5$) und schliesslich isometrisches überwechselt. Der Beginn der dritten und vierten Wachstumsetappe setzt im Vergleich zu Teilstrecke L 5 ein halbes bzw. ganzes Stadium später ein.

L 8 und L 9:

Zum kontrastreichen Vergleich seien auch hier die beiden Teilstrecken einander gegenübergestellt. Das Wachstum von L 8 erfährt nach einer kurzen, stark negativ allometrischen Phase ($a = 0,01$) eine rapide Zunahme ($a = 3,7$), die noch bis ins Stadium II andauert, dann aber von einer Phase verminderten positiv allometrischen Wachstums ($a = 1,7$) abgelöst wird. Innerhalb des Stadiums III kommt es zu einer weiteren Intensitätsabnahme, die aber noch nicht zur vollständigen Isometrie führt, wie sie für adulte Hechte zutreffend ist.

Im Vergleich zu L 8 wächst Teilstrecke L 9 viel langsamer und erreicht nach Ablauf einer längeren, negativ allometrischen Phase ($a = 0,6$) zu Beginn des Stadiums II ihre höchste Intensität mit einer Wachstumskonstanz von $a = 1,4$. Diese erlischt bald und geht in unverändert isometrisches Wachstum über.

Keiner der kritischen Punkte des relativen Körperwachstums (Eckpunkte der logarithmischen Geraden) der einen Teilstrecke fällt mit dem der anderen zusammen. Jede Körperstrecke weist einen nur für sie selbst charakteristischen Verlauf der Formveränderlichkeit auf.

L 15, 16 und 16':

Die Wachstumsverhältnisse des vorderen und mittleren Rumpfabschnittes zeigen zu denen des Kopfes ein ganz anderes Bild; stark gedämpftes, negativ allometrisches Wachstum ist hier die Regel, zu der das Verhalten der Teilstrecke L 16 mit einer schwach positiven Allometrie von $a = 1,2$ für kurze Zeit eine Ausnahme bildet.

Im allgemeinen erfährt der bis zum After reichende Rumpfabschnitt von Stadium II an einen geringen Wachstumsauftrieb, doch erreicht nur der zwischen Bauchflossen und Anus gelegene Teil (L 16) innerhalb des hier erfassten Zeitpunktes der Entwicklung Isometrie, was jedoch aus der Wachstumskurve L 16' nicht hervorgeht. Bei Unterteilung des Längenmasses L 16' in die kleineren Strecken L 15 und L 16 kommt das unterschiedliche Wachstum der beiden Körperabschnitte deutlicher zum Ausdruck. L 15 wächst in zwei, L 16 in drei Etappen und — mit Ausnahme der mittleren Etappe — intensiver als L 15.

L 17:

Das Wachstum der caudalen — hinter dem Anus gelegenen Rumpfpartie zeichnet sich in der ersten seiner drei Phasen durch schwach positive Allometrie ($a = 1,5$) aus, die aber bald (mit Eintritt des Stadiums 4) in negative Allometrie ($a = 0,6$) umschlägt. Dieses verlangsamte Wachstum charakterisiert auch noch das Stadium I, II, und III der freien postembryonalen Periode. Bei Einbeziehung der gesamten Schwanzflosse in die Teilstrecke (wie es bei Serie II geschehen ist), ist die dritte Wachstumsetappe nicht wie bei Serie I durch Isometrie sondern durch die etwas früher einsetzende, schwach positive Allometrie ($a = 1,2$) ausgezeichnet, die bedingt ist durch das etwas raschere Wachstum der Schwanzflosse.

D 12 und D 18:

Das längere Zeit anhaltende, schwach positiv allometrische Wachstum von D 12 ($a = 1,2$) wird mehr und mehr verlangsamt ($a = 0,9$ in Stadium I und II), bis es mit einer negativ allometrischen Konstante $a = 0,7$ die Wachstumskurve von D 18 schneidet.

Anfänglich bleibt die isometrisch wachsende Rumpfbreite (D 18) hinter dem Wachstum der Kopfbreite zurück, erfährt aber zum gleichen Zeitpunkt, da sich die Wachstumsgeschwindigkeit von D 12 zum 1. Mal verringert, einen starken, bis ins Stadium III nachweisbaren Wachstumsantrieb ($a = 2,1$) und fällt dann wieder in das isometrisch proportionale Wachstum der ersten Etappe zurück. So erreichen die beiden Teilstrecken D 12 und D 18 bei sehr verschiedener Anfangsgrösse durch unterschiedliches Wachstum in Stadium V der freien Phase annähernd eine gemeinsame Endgrösse. Doch bedeutet dies (wie aus dem Vergleich mit Adulttieren hervorgeht) — wenigstens für D 12 keinen definitiven Zustand. Das schwach negativ allometrische Wachstum der Kopfbreite muss zu einem späteren, hier nicht mehr kontrollierten Zeitpunkt eine Intensitätsänderung in der Weise erfahren, dass sie in das proportionale Wachstum der reifen Hechtgestalt überleitet.

Für die Teilstrecke D 18 liegen keine adulten Messwerte vor; doch ist aus dem gleichmässigen Verhalten aller anderen untersuchten Teilstrecken auch hier auf ein isometrisches Wachstum zu schliessen.

L 21, V 22, L 23:

Die Reduktion des Dottersackes manifestiert sich in dem negativen $\tan \alpha$ bzw. einer fallenden Geraden. Aus den einander nicht vollends entsprechenden (deshalb getrennt aufgeführten) Kurven der einzelnen Serien ist dennoch ein gemeinsamer, charakteristischer Verlauf herauszulesen. So setzt bei allen drei Serien während der Anheftungsphase eine allmähliche, mit dem Beginn des Stadiums I der freien Phase (bei Serie III etwas früher) rapide Abnahme der Länge und Breite des Dottersackes ein, die im Laufe dieses ersten freien Stadiums ihr Ende findet. Sehr deutlich geht dies aus dem Verlauf der allometrischen Kurven der Serie II hervor, die zu diesem Zeitpunkt plötzlich in eine positiv allometrische Phase hinüberwechselt, deren einzige Ursache in der nun einsetzenden, starken Vergrößerung des Darmtractus zu suchen ist. Dieser auf biometrischem Wege erhaltene Zeitpunkt der vollständigen Dotterresorption fällt mit dem auf histologischem Wege ermittelten zusammen.

In Serie I erfolgt die Abnahme des Dotters zunächst rasch, kommt aber in Stadium 3 und 4 der Anheftungsphase zu einem relativen Stillstand und setzt interessanterweise erst wieder mit dem Stadium I der freien Phase — dann aber sehr stark ein. Diese Retardierung des Dotterabbaues äussert sich in einer Zweigipflichkeit der allometrischen Kurven B und H. Vielleicht ist hier die Dotterabnahme durch die Vergrößerung der inneren Organe (Leber, Darm, Pancreas, Schwimmblase) so kompensiert, dass sie äusserlich nicht mehr zur Geltung kommt.

Im Gegensatz zur Höhe und Breite des Dottersackes steht das Verhalten der Länge. Diese nimmt langsam aber stetig zu, was in einer sehr stark negativen Allometrie zum Ausdruck kommt. Mit Beginn des Stadiums II der freien Phase findet sie ebenfalls ihr Ende bzw. wird abgelöst von einer positiv allometrischen Wachstumsphase (s. Serie II).

L 13 und L 14:

Das Wachstum der Kopfhöhe setzt — nach dem Schlüpfen des Embryo — mit einer Wachstumskonstante von $a = 1,7$ ein, die zu einer schnelleren Vergrößerung der Teilstrecke gegenüber der Körperlänge führt. Aber bereits in Stadium 3 der Anheftungs-

phase beginnt ein negativ allometrisches Wachstum ($a = 0,7$), das bis in das zweite Stadium der freien Phase andauert. In dieser Zeit der Wachstumsverzögerung vollzieht sich die Herausdifferenzierung der typischen Hechtschnauze und die damit einhergehende Abflachung des Schädels. Mit der Ausbildung des oberständigen Maules wächst die Kopfhöhe proportional zur Körperlänge, wie es auch für Adulttiere zutrifft.

Verfolgt man nun die Teilstrecke L 14 gesondert, so stösst man auf ein überraschendes Ergebnis: die nur im ersten Stadium der Anheftungsphase nachweisbare positive Allometrie ($a = 1,9$) wird von einer bis zum Stadium II der freien Phase andauernden Periode der Reduktion abgelöst, m. a. W. Teilstrecke L 14 wächst gegenüber der Körperlänge überhaupt nicht; sie verringert sich sogar. Der Abstand der Augenmitte bis zum Schädeldach wird kürzer und die Augen demzufolge dorsalwärts verschoben. Die Reduktion erfolgt nicht kontinuierlich sondern in 3 charakteristischen Etappen, wie wir sie ähnlich auch bei den Teilstrecken L 19 und L 20 zu verzeichnen haben. Sind sie dort jedoch mitbedingt durch die Abnahme des Dotters, so lassen sich hier keine direkten Beziehungen dazu finden. Aus dem Vergleich mit der Teilstrecke L 13 ergibt sich, dass der ventralen, visceralen Kopfpartie allein das schwach negativ allometrische Wachstum $a = 0,7$ zuzuschreiben ist.

Mit Beginn des Stadiums II ist die Reduktion beendet, die Augen haben ihre definitive Lage eingenommen. Es setzt — wie bei Teilstrecke L 13 — isometrisches Wachstum ein, das unverändert bis zum Stadium V fort dauert.

L 19 und L 20:

Da die Teilstrecke L 19 so gewählt ist, dass sie — solange noch ein Dottersack existiert — dessen rostrale Höhe mit umfasst, so ist es nicht erstaunlich, in der ersten Wachstumsstufe der Rumpfhöhe eine Reduktion anzutreffen, die zu Beginn des Stadiums 4 ihren tiefsten Punkt erreicht hat. Es folgt ihr eine kurze, negativ allometrische Phase ($a = 0,8$), der sich in Stadium I noch einmal eine Etappe geringer Reduktion anschliesst ($a = 0,5$). Nach einer in Stadium II beginnenden, positiv allometrischen Wachstumsphase ($a = 1,3$) verringert sich die Wachstumsintensität auf $a = 0,9$ und dauert bis ins Stadium V unverändert fort.

Zur Erfassung der Verlagerung der dorsal angelegten Brustflossen auf die Ventralseite des Rumpfes wurde die Teilstrecke L 20 gewählt, die jedoch die Einstellung der Flossenbasis aus der Horizontalen in die Vertikale unberücksichtigt lässt. Die bis zum Beginn des zweiten freien Stadiums auftretende, in drei Etappen sich vollziehende Reduktion, deren kritische Punkte jeweils mit denen von L 19 und L 21 und V 22 (der Serie I) zusammenfallen, ist zum grössten Teil durch die Abnahme des Dotters bedingt; doch kann hier bereits von einer echten, wenn auch nicht definitiven ventralen Verlagerung der Pectoralen gesprochen werden. Durch eine schwach negativ allometrische Phase (während des zweiten freien Stadiums), deren Ursache wohl zunächst in der starken Vergrösserung der inneren Organe zu suchen ist, erfährt L 20 eine leichte Verlängerung, die Brustflosse dadurch eine scheinbare Verlagerung dorsalwärts. Mit Beginn des Stadiums III der freien Phase (zu einer Zeit, da die „Kniebildung“ des Mitteldarmes beendet ist und die Gesamtrumpfhöhe in nahezu isometrisches Wachstum übergeht), setzt die zweite Etappe der Reduktion ein, die schliesslich zu einer vollständigen und definitiven Verlagerung der Pectoralen auf die Ventralseite des Rumpfes führt. Die Bewegung scheint mit dem Stadium V nahezu abgeschlossen zu sein.

Messungen an Adulthechten, die einen Vergleich ermöglichen würden, liegen für diese beiden Teilstrecken nicht vor.

L 24:

Die hier vorliegenden Ergebnisse bestätigen annähernd die von SPRENGER (1945) am Hecht ausgeführten Untersuchungen über das relative Wachstum der Brustflossen, das zuerst stark positiv allometrisch wächst ($a = 3,3$), dann — beim Übergang des ersten freien Stadiums in das zweite — in schwach negativ allometrisches Wachstum überwechselt ($a = 0,7$).

(Dies wurde allerdings nur für eine Serie, an einer verhältnismässig geringen Anzahl untersucht und über eine zu kurze Zeitdauer verfolgt. Der Wert besitzt deshalb nicht volle Gültigkeit.)

SPRENGER, der für die erste, bis zum Ende der Ruheperiode dauernde Wachstumsetappe denselben Wert fand, gibt für die weitere Entwicklung isometrisches Wachstum an, wie es auch für die Adulttiere zutrifft (s. SPRENGER und eigene Resultate).

L 27:

Der durch die relativ späte Anlage verursachte Rückstand des Längenwachstums der Bauchflosse wird durch ein anfänglich sehr stark positiv allometrisches Wachstum von $a = 7,1$ (bei SPRENGER $a = 12$?) wieder ausgeglichen, das aber nur bis zum Beginn des zweiten freien Stadiums andauert und dann in ein stark vermindertes Tempo von $a = 1,9$ (bei SPRENGER $a = 2\frac{3}{4}$) verfällt.

Ein Vergleich mit Adultwerten zeigt, dass das Wachstum (zu einem bis jetzt nicht festgelegten Zeitpunkt) in Isometrie übergeht (s. auch SPRENGER).

L 25 und L 26:

Rücken- und Afterflosse zeigen in ihrem Wachstum ein genau gleiches Verhalten. In dem leicht positiven, dann schwach allometrischen Wachstum der ersten Hälfte der postembryonalen Anheftungsphase mit der daran anschliessenden Periode der Reduktion kommt nicht die Formveränderung der Rücken- und Analflosse sondern die des Flossensaumes zum Ausdruck, der — sich zunächst etwas verbreiternd — schliesslich einem in dieser Region zuerst sichtbaren Abbau unterliegt. Erst mit dem Beginn der zweiten freien Phase ist sein Einfluss auf den Wert der Wachstumskonstanten ausgeschaltet. Man kann von diesem Zeitpunkt an ein positiv allometrisches Wachstum ($a = 2,7$) der beiden unpaaren Flossen konstatieren, womit jedoch ein definitiver Zustand noch nicht erreicht ist, wie vergleichsweise aus dem isometrischen Wachstum der Adulttiere hervorgeht.

L 28 und L 29:

Das Längenwachstum der Schwanzflosse — erfasst durch das Längenwachstum der Hypuralia — zeigt bis zum Stadium III der freien Phase eine der Rücken- und Analflosse entsprechende positive Allometrie, verlangsamt dann etwas seine Intensität ($a = 1,6$), ohne jedoch (bis zum Stadium V) eine dem Adultzustand entsprechende Isometrie zu erreichen. Ähnlich wie die Rücken- und Analflosse — mit einer zuerst schwach positiven, dann negativ allometrischen Phase — verhält sich die Breite der Schwanzflosse während der postembryonalen Anheftungsphase, in der die Anlage der Hypuralia noch so dürftig ist, dass sie keinen

formverändernden Einfluss ausübt. Insofern wird durch die Wachstumskurve dieses Stadiums ebenfalls nur das Verhalten des Flossensaumes dieser Region zum Ausdruck gebracht. Das weitere Breitenwachstum der Schwanzflosse wurde nicht mehr untersucht.

Diskussion der Ergebnisse.

(vgl. hierzu Abb. 62 und 63, p. 451-452).

Aus dem fortwährenden Fluss der Formveränderungen und des Wachstumsgeschehens während der Postembryonalperiode lassen sich drei charakteristische Formzustände herauskristallisieren, die mit dem Stadium 3 der Anheftungsphase und den Stadien I resp. II der freien Phase jeweils zusammenfallen und allmählich zu der annähernd reifen Form des Stadiums IV und V überleiten. Die Stadien 1, 2, 4 bzw. III weisen als verbindende Übergänge Züge des ihnen vorausgegangenen bzw. nachfolgenden Formzustandes auf. Wachstumsprofile, die durch Auftragung von Wachstumskonstanten (*a*) successiver Teilstrecken der Dorsal- und Ventralseite gegenüber der Körperlänge erhalten werden, illustrieren eingehend die betreffenden charakteristischen Momente dieses postembryonalen Formgeschehens.

So liegen dem Wachstumsprofil des Stadiums 3 die Teilstrecken:

L 8, L 9, L 7, L 16', L 17 für die Dorsalseite
V 10, V 11, L 16', L 17 " " Ventralseite

den Stadien I, II, IV die Teilstrecken:

L 8, L 9, L 7, L 15, L 16, L 17 für die Dorsalseite
V 10, V 11, L 15, L 16, L 17 " " Ventralseite

zugrunde.

Aus dem Kurvenverlauf der allometrischen Konstanten (*a*) ist ersichtlich, dass die intensivsten Wachstumsvorgänge während der Anheftungsphase und im ersten Stadium der freien Phase stattfinden und sich in den nachfolgenden Stadien II und IV ein annähernd ausbalanciertes System vorfindet.

Das stärkste Wachstum besitzt anfänglich die Kopfpattie, deren rostralste Zone am intensivsten sich entwickelt. Das Wachstum

des Rumpfes bleibt gegenüber dem des Kopfes weit zurück, doch ist (mit Ausnahme des Stadiums II) ein gleichmässig cranio-caudal abnehmender Wachstumsgradient nicht zu verzeichnen. Die Intensitätsmaxima wechseln stets und sind in der nächsten Wachstumsetappe nicht mehr für dieselbe Teilstrecke zu konstatieren.

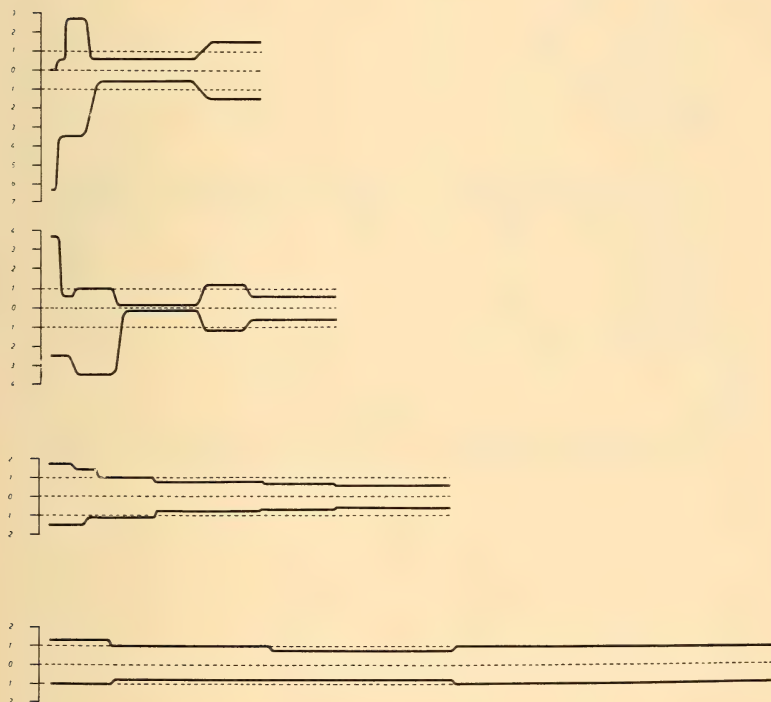


ABB. 62.

Wachstumsprofile für die Stadien 3, I, II, IV.

Bei vorgerückter Entwicklung (Stadium II) — zur Zeit der vollständigen Dotterresorption — geht das Wachstum des Kopfes mehr und mehr zurück und bewirkt eine leichte Intensitätsverlagerung auf die caudale Körperzone, die nun im Zeichen der Ausdifferenzierung der unpaaren Flossen, insbesondere der Schwanzflosse steht.

Obwohl mit Stadium IV noch keine vollständige, für alle Teilstrecken zutreffende Isometrie erreicht ist, kann der Organismus

doch schon als ein dem Adultzustand annähernd entsprechendes System definiert werden, dessen Proportionen — mit Ausnahme der Teilstrecke L 20 — in Stadium V und wahrscheinlich noch für längere Zeit unverändert beibehalten werden.

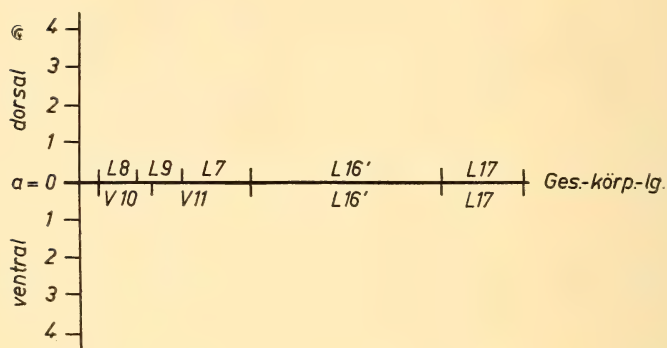


ABB. 63.

Schema zu den Wachstumsprofilen der Abb. 62.

Abb. 30-43. — Wachstumskurven der Serien I, II, III für verschiedene Teilstrecken (s. Seite 362 und 364).

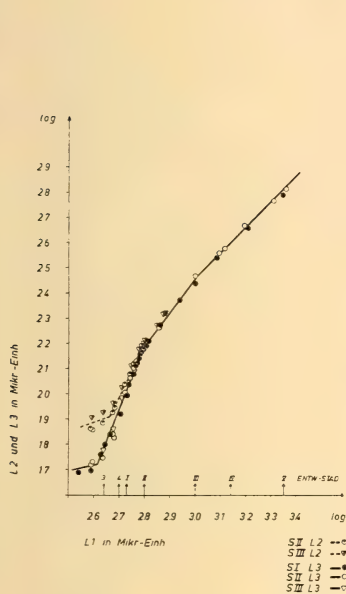


Abb. 30: L 2 und L 3.



Abb. 31: V 10 und V 11.



Abb. 32: L 6.

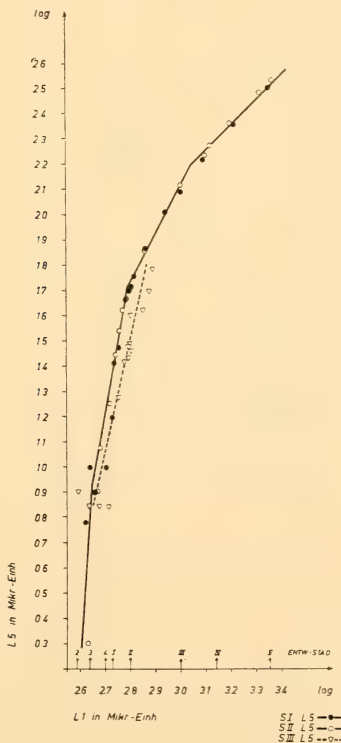


Abb. 33: L 5.

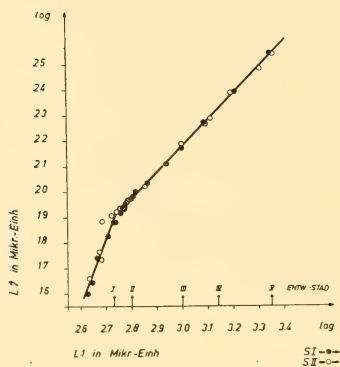


Abb. 34: L 7.

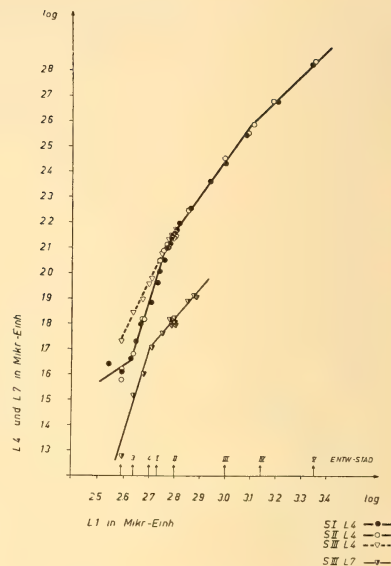


Abb. 35: L 4 und L 7.

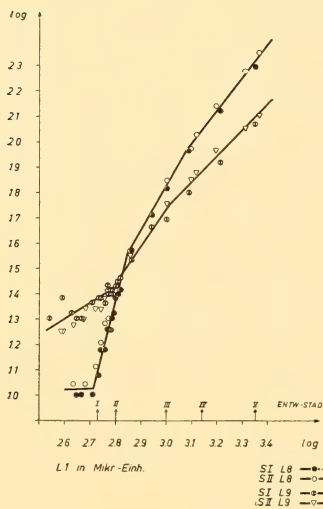


Abb. 36: L 8 und L 9.

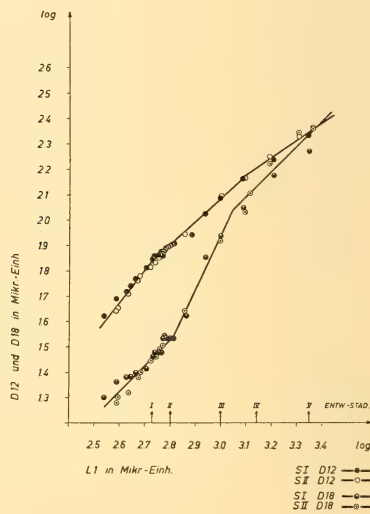


Abb. 37: D 12 und D 18.

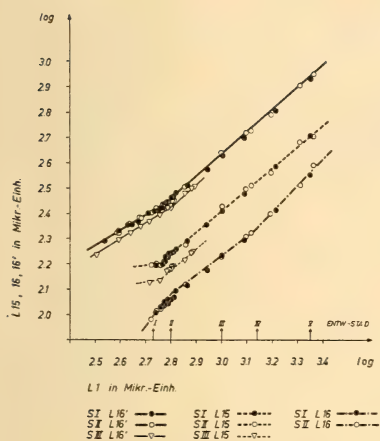


Abb. 38: L 15, L 16, L 16'.

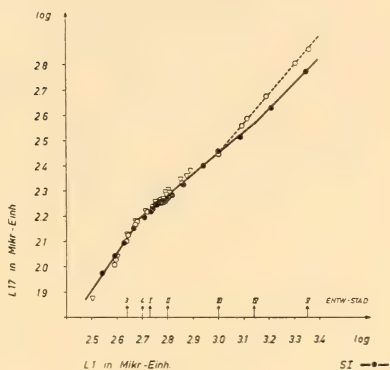


Abb. 39: L 17.

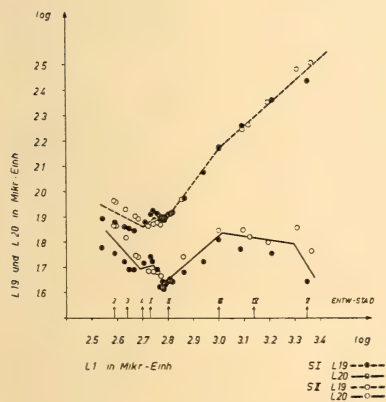


Abb. 40: L 19 und L 20.

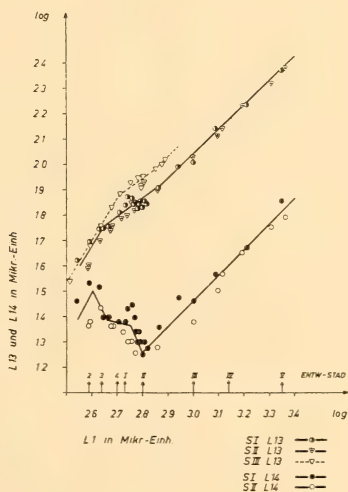


Abb. 41: L 13 und L 14.

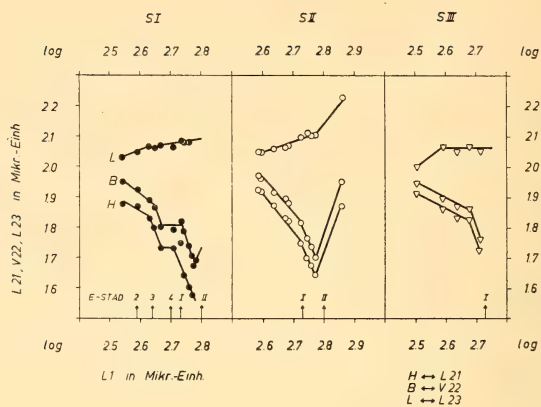


Abb. 42: L 21, V 22 und L 23.

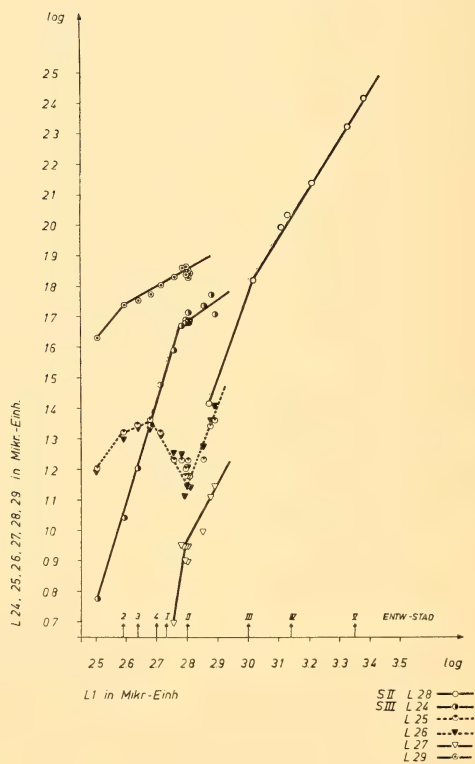


Abb. 43: L 24, L 25, L 26, L 27, L 28 und L 29.

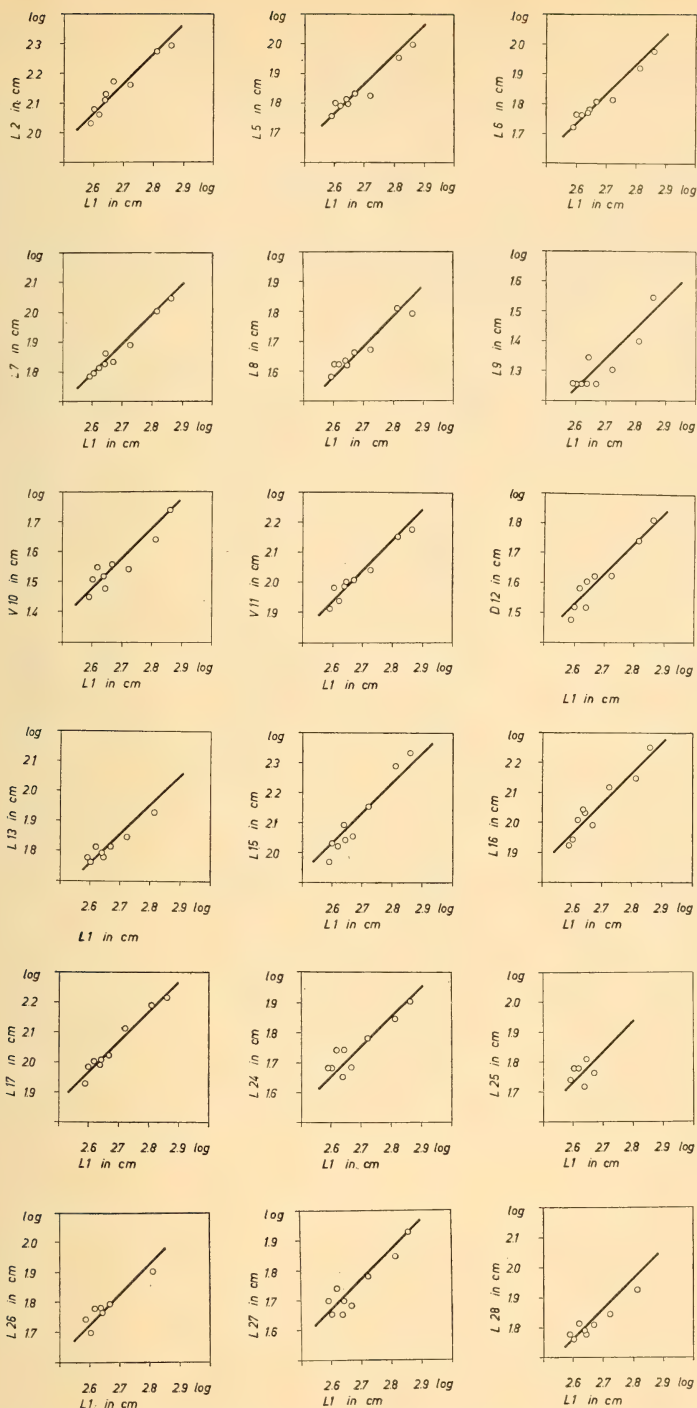


ABB. 44-61. — Wachstumskurven der Serie VIII für verschiedene Teilstrecken (s. Seite 362-364).

Abb. 44: L 2. — Abb. 45: L 5. — Abb. 46: L 6. — Abb. 47: L 7. — Abb. 48: L 8. — Abb. 49: L 9. — Abb. 50: V 10. — Abb. 51: L 13. — Abb. 52: D 12. — Abb. 53: L 13. — Abb. 54: L 15. — Abb. 55: L 16. — Abb. 56: L 17. — Abb. 57: L 24. — Abb. 58: L 25. — Abb. 59: L 26. — Abb. 60: L 27. — Abb. 61: L 28.

TABELLE 4a.

*Arithmetisches Mittel \bar{x} , Streuung $\sigma_{\bar{x}}$ und Variationskoeffizient V
für die Teilstrecken 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10.*

Serie	Alter in Tagen	Anzahl unters. Tiere	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	$\sigma_{\bar{x}}$	V	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	$\sigma_{\bar{x}}$	V
I	9	10	1	349	4,6	0,04	3	49	1,0	0,04
	14			510	2,5	0,05		85	1,1	0,04
	20			604	3,8	0,02		139	1,8	0,04
	27			658	14,6	0,07		163	4,3	0,08
	47			1002	55,9	0,18		274	15,5	0,17
	68			1626	140,0	0,25		453	39,9	0,27
	9	10	4	44	0,9	0,06	5	—	—	—
	14			77	1,0	0,04		10	1,5	0,47
	20			134	1,6	0,03		44	0,9	0,06
	27			157	4,6	0,09		57	2,0	0,11
	47			270	17,1	0,20		122	9,0	0,23
	68			475	46,5	0,30		227	24,8	0,33
	9	10	6	—	—	—	8	—	—	—
	14			23	0,3	0,04		—	—	—
	20			42	1,1	0,08		18	0,5	0,09
	27			55	1,9	0,10		27	1,3	0,15
	47			114	8,4	0,23		65	5,8	0,28
	68			212	23,0	0,34		132	17,2	0,41
	9	10	9	20	0,4	0,07	10	—	—	—
	14			23	0,3	0,04		23	0,6	0,08
	20			26	0,4	0,05		37	1,0	0,08
	27			29	1,0	0,11		40	1,5	0,11
	47			49	3,3	0,21		79	5,3	0,21
	68			83	7,0	0,26		133	12,4	0,29

TABELLE 4b.

*Arithmetisches Mittel \bar{x} , Streuung $\sigma_{\bar{x}}$ und Variationskoeffizient V
für die Teilstrecken 11, 12, 13, 14, 16', 17, 18, 19.*

Serie	Alter in Tagen	Anzahl unters. Tiere	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	$\sigma_{\bar{x}}$	V	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	$\sigma_{\bar{x}}$	V
I	9	10	11	—	—	—	12	—	—	—
	14			51	1,1	0,06		—	—	—
	15			—	—	—		70	0,5	—
	20			102	1,3	0,03		76	0,6	0,02
	27			124	3,2	0,08		81	1,6	0,06
	47			198	11,9	0,18		123	6,2	0,15
	68	10	13	318	27,2	0,27		174	10,8	0,19
	9			42	0,7	0,05	14	29	1,0	0,11
	14			65	0,7	0,03		24	0,9	0,12
	20			67	0,8	0,03		20	0,7	0,11
	27			70	1,4	0,06		19	0,4	0,07
	47			103	3,2	0,09		29	1,5	0,15
	68	10	16'	173	13,9	0,25		47	3,7	0,24
	9			197	2,0	0,03	17	94	2,1	0,07
	14			253	1,0	0,01		156	1,6	0,03
	20			280	1,2	0,01		181	2,1	0,03
	27			303	6,3	0,06		190	4,2	0,07
	47			431	22,3	0,16		285	13,4	0,14
	68	10	18	649	51,0	0,24		425	37,1	0,27
	9			—	—	—	19	78	1,3	0,05
	14			26	0,6	0,07		76	0,4	0,01
	20			35	0,4	0,04		79	1,0	0,04
	27			34	1,5	0,13		83	2,8	0,10
	47			87	7,5	0,27		148	9,2	0,19
	68			150	16,1	0,34		232	21,1	0,28

TABELLE 4c.

Arithmetisches Mittel \bar{x} , Streuung $\sigma_{\bar{x}}$ und Variationskoeffizient V
für die Teilstrecken 20, 21, 22, 23.

Serie	Alter in Tagen	Anzahl unters. Tiere	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	$\sigma_{\bar{x}}$	V	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	$\sigma_{\bar{x}}$	V
I	9	10	20	60	2,1	0,11	21	75	0,9	0,03
	14			52	0,7	0,04		54	1,4	0,08
	18			—	—	—		38	0,8	0,06
	20			44	1,0	0,07		—	—	—
	27			44	1,3	0,09		—	—	—
	68			57	2,2	0,12		—	—	—
	9	10	22	89	2,2	0,07	23	107	1,6	0,04
	14			62	0,9	0,04		116	0,8	0,02
	17			—	—	—		120	0,4	0,01
	18			51	0,4	0,02		—	—	—
	20			49	1,1	0,07		—	—	—

TABELLE 4d.

Arithmetisches Mittel \bar{x} , Streuung $\sigma_{\bar{x}}$ und Variationskoeffizient V
für die Teilstrecken 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10.

Serie	Alter in Tagen	Anzahl unters. Tiere	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	$\sigma_{\bar{x}}$	V	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	$\sigma_{\bar{x}}$	V
II	15	16	1	388	2,5	0,03	3	53	0,6	0,04
	20	60		473	1,4	0,02		69	0,3	0,04
	30	60		590	1,8	0,02		134	0,5	0,03
	48	55		1245	10,1	0,06		363	4,1	0,08
	66	20		1557	10,1	0,03		464	9,5	0,09
	15	16	4	38	1,1	0,11	5	—	—	—
	20	60		66	0,3	0,04		8	0,3	0,3
	30	60		129	0,5	0,03		42	0,5	0,1
	48	55		357	4,3	0,09		173	2,1	0,09
	66	20		476	9,7	0,09		231	5,2	0,1
	20	60	6	20	0,2	0,07	8	8	0,2	0,17
	30	60		43	0,5	0,08		20	0,1	0,05
	48	55		164	2,0	0,09		93	1,1	0,09
	66	20		221	5,5	0,1		137	3,6	0,11
	15	16	9	18	0,3	0,06	10	—	—	—
	20	60		20	0,2	0,07		20	—	0,05
	30	60		26	0,3	0,08		34	—	0,06
	48	55		71	0,9	0,09		99	—	0,06
	66	20		93	1,7	0,08		134	—	0,10

TABELLE 4e.

Arithmetisches Mittel \bar{x} , Streuung σ_x und Variationskoeffizient V
für die Teilstrecken 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18.

Serie	Alter in Tagen	Anzahl unters. Tiere	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	σ_x	V	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	σ_x	V
II	15	16	11	—	—	—	12	44	0,4	0,04
	20	60		40	—	0,05		58	0,2	0,03
	30	60		97	—	0,05		72	0,2	0,02
	48	55		270	—	0,07		146	1,2	0,06
	66	20		329	—	0,10		178	3,0	0,07
	15	16	13	39	—	0,04	14	23	—	0,10
	20	60		55	—	0,04		23	—	0,07
	30	60		66	—	0,03		18	—	0,08
	48	55		131	—	0,06		32	—	0,10
	66	20		170	—	0,08		45	—	0,10
	30	60	15	162	0,8	0,04	16	109	0,5	0,04
	48	55		315	3,2	0,08		204	1,7	0,06
	66	20		367	6,5	0,08		251	5,6	0,10
	15	16	17	103	0,9	0,03	18	19	0,3	0,05
	20	60		147	0,5	0,03		24	0,1	0,04
	30	60		183	0,8	0,03		32	0,3	0,06
	48	55		363	5,4	0,11		108	1,3	0,09
	66	20		476	10,0	0,09		167	4,0	0,10

TABELLE 4f.

Arithmetisches Mittel \bar{x} , Streuung σ_x und Variationskoeffizient V
für die Teilstrecken 19, 20, 21, 22, 23.

Serie	Alter in Tagen	Anzahl unters. Tiere	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	σ_x	V	Teil- strecke	\bar{x} in M.-einh.	σ_x	V
II	15	16	19	92	0,7	0,03	20	73	0,8	0,04
	20	60		80	0,3	0,03		56	0,3	0,05
	30	60		74	0,4	0,04		46	0,3	0,06
	48	55		174	1,5	0,06		70	0,7	0,07
	66	20		224	5,0	0,10		63	1,4	0,10
	15	16	21	83	0,8	0,04	22	92	0,8	0,03
	20	60		67	0,5	0,06		78	0,6	0,06
	30	60		44	0,4	0,07		50	0,5	0,08
	15	16	23	110	1,0	0,04				
	20	60		115	0,7	0,05				
	30	60		126	0,8	0,05				

TABELLE 5a.

Wachstumskonstante a (tang α) für die verschiedenen Phasen der postembryonalen Entwicklung.

Teil- strecke	Serie	Anheftungsphase				Freie Phase				
		1	2	3	4	I	II	III	IV	V
2	I	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	II	—	0,3	0,3	2,0	2,0	1,3	—	—	—
	III	—	0,3	0,3	2,0	2,0	1,3	—	—	—
3	I	—	0,2	2,5	2,5	2,5	1,3	1,0	1,0	1,0
	II	—	0,2	2,5	2,5	2,5	1,3	1,0	1,0	1,0
	III	—	0,2	2,5	2,5	2,5	1,3	1,0	1,0	1,0
4	I	0,6	0,6	3,3	3,3	3,3	1,4	1,4	1,0	1,0
	II	0,6	0,6	3,3	3,3	3,3	1,4	1,4	1,0	1,0
	III	—	2,0	2,0	2,0	2,0	1,4	—	—	—
5	I	—	14,3	5,7	5,7	5,7	1,9	1,0	1,0	1,0
	II	—	14,3	5,7	5,7	5,7	1,9	1,0	1,0	1,0
	III	—	—	4,3	4,3	4,3	—	—	—	—
6	I	—	9,5	3,0	3,0	3,0	3,0 1,5	1,5	1,0	1,0
	II	—	9,5	3,0	3,0	3,0	3,0 1,5	1,5	1,0	1,0
7	I	—	—	2,5	2,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	II	—	—	2,5	2,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	III	—	3,3	3,3	1,15	1,15	1,15	1,15	—	—
8	I	—	0,01	0,01	0,01	3,7	3,7 1,7	1,7 1,3	1,3	1,3
	II	—	0,01	0,01	0,01	3,7	3,7 1,7	1,7 1,3	1,3	1,3
9	I	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	1,4	1,0	1,0	1,0
	II	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	1,4	1,0	1,0	1,0
10	I	—	—	6,3	2,5	2,5	1,5	1,0	1,0	1,0
	II	—	—	6,3	2,5	2,5	1,5	1,0	1,0	1,0
11	I	—	—	3,5	3,5	3,5	1,2	1,2	0,8	0,8
	II	—	—	3,5	3,5	3,5	1,2	1,2	0,8	0,8
12	I	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	0,9	0,9	0,7	0,7
	II	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	0,9	0,9	0,7	0,7
13	I	1,7	1,7	0,7	0,7	0,7	0,7 1,0	1,0	1,0	1,0
	II	1,7	1,7	0,7	0,7	0,7	0,7 1,0	1,0	1,0	1,0
	III	1,6	1,6	1,6	1,6	0,7	0,7 1,0	—	—	—

TABELLE 5b.

Wachstumskonstante a (tang α) für die verschiedenen Phasen der postembryonalen Entwicklung.

Teil- strecke	Serie	Anheftungsphase				Freie Phase				
		1	2	3	4	I	II	III	IV	V
14	I	1,9	-2,0	-0,2	-0,2	-2,4	1,0	1,0	1,0	1,0
	II	1,9	-2,0	-0,2	-0,2	-2,4	1,0	1,0	1,0	1,0
15	I	—	—	—	0,1	0,1	0,8	0,8	0,8	0,8
	II	—	—	—	0,1	0,1	0,8	0,8	0,8	0,8
	III	—	—	—	0,1	0,1	0,8	—	—	—
16	I	—	—	—	1,2	1,2	0,7	0,7	1,0	1,0
	II	—	—	—	1,2	1,2	0,7	0,7	1,0	1,0
16'	I	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,9	0,9	0,9	0,9
	II	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,9	0,9	0,9	0,9
	III	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,9	0,9	0,9	0,9
17	I	1,5	1,5	1,5	0,6	0,6	0,6	0,6	1,0	1,0
	II	1,5	1,5	1,5	0,6	0,6	0,6	1,2	1,2	1,2
	III	1,5	1,5	1,5	0,6	0,6	0,6	—	—	—
18	I	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	2,1	2,1	1,0	1,0
	II	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	2,1	2,1 1,0	1,0	1,0
19	I	-0,5	-0,5	-0,5	0,8	-0,5	1,3	0,9	0,9	0,9
	II	-0,5	-0,5	-0,5	0,8	-0,5	1,3	0,9	0,9	0,9
20	I	-1,2	-1,2	-1,2	0,2	-1,8	0,8	-0,14	-0,14 -1,6	-1,6
	II	-1,2	-1,2	-1,2	0,2	-1,8	0,8	-0,14	-0,14 -1,6	-1,6
21	I	-0,6	-2,7	-0,01	-2,4	-2,4	2,7			
	II	-1,2	-1,2	-1,2	-1,2	-2,1				
	III	-0,5	-0,5	-0,5	-3,1					
22	I	-0,8	-3,7	-0,01	-0,01	-3,7	2,1			
	II	-1,2	-1,2	-1,2	-1,2	-2,4	2,7			
	III	-0,5	-0,5	-0,5	-3,1					
23	I	0,4	0,4	0,15	0,15	0,15	1,3			
	II	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3				
	III	0,8	0,1	0,1	0,1					

TABELLE 5c.

Wachstumskonstante a ($\tan \alpha$) für die verschiedenen Phasen
der postembryonalen Entwicklung.

Teil strecke	Serie	Anheftungsphase				Freie Phase				
		1	2	3	4	I	II	III	IV	V
24	III	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	0,7	—	—	—
25	III	1,4	0,4	0,4 -1,7	-1,7	-1,7	2,7	—	—	—
26	III	1,4	0,4	0,4 -1,7	-1,7	-1,7	2,7	—	—	—
27	III	—	—	—	7,1	7,1	1,9	—	—	—
28	II	—	—	—	—	—	2,7	1,6	1,6	1,6
29	III	1,2	0,6	0,6	0,6	—	—	—	—	—

IV. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurde der Versuch unternommen, anhand morphologischer und anatomisch-histologischer Kriterien die Ontogenese von *Esox lucius* zu erfassen.

Dabei wurde eine Einteilung getroffen in die Stadien:

A—K der Embryonalphase	} der Postembryonalperiode
1—4 der Anheftungsphase	
I—V der freien Phase	

2. Im Speziellen gelangte die Morpho- und Histogenese des Darmtractus zur Untersuchung. Es zeigte sich, dass die Bildung des Darmrohres in die Embryonalperiode, die seines Reliefs in die Anheftungsphase und die Ausdifferenzierung der übrigen Darmwand in die freie Phase der Postembryonalperiode fällt.

3. Die Ausbildung einer Darmlichtung erfolgt zuerst im soliden, aus einschichtig-kubischem Epithel bestehenden Rumpfdarm in der Region des hepato-pancreatischen Ringes durch Zusammenfließen isolierter kleiner, spaltförmiger Lumina. Die etwas später

eintretende und unabhängig vom Rumpfdarm sich vollziehende Lumenbildung des Kiemendarmes kommt nach einem anderen Prinzip zustande und beginnt mit einer intensiven Zellvermehrung. Durch das Abstossen überschüssiger Zellen nach innen und infolge epithelialer Anordnung derselben kommt es zwangsläufig zu einer Aufspaltung, die in einem von innen nach aussen fortschreitenden Prozess schliesslich den ganzen branchialen Vorderdarm mit Ausnahme der Mund- und Kiemenöffnungen und des soliden Oesophagus erfasst. Das Durchbrechen der noch bestehenden Darmverschlüsse erfolgt in cranio-caudaler Richtung, indem sich zuerst der Mund und die Kiemenspalten, dann der Oesophagus und zuletzt der After öffnet.

4. Die Ontogenese des Reliefs setzt stets mit der Anlage von Längsfalten ein, denen erst später Querfalten folgen. In ihrer frühesten Differenzierung stellen sie — mit Ausnahme der oesophagealen Längsfalten — rein epitheliale, durch Zellvermehrung entstandene Bildungen dar (= Stadium der Vorphase im Sinne GÜNTERTS), die erst durch das Einwachsen des subepithelialen Bindegewebes in die Epithelkuppen zu echten Falten werden. Die Längsfalten des Oesophagus entstehen durch direkte Ausbuchtung der überall gleichmässig gestalteten Mucosa unter Mitwirkung des subepithelialen Bindegewebes.

Die Faltenentstehung setzt im Mitteldarm ein hinter der Mündungsstelle des Ductus choledochus und schreitet caudalwärts fort. Die Intensitätsänderung des Auffaltungsprozesses erfolgt dabei nicht in gleichförmig-kontinuierlicher Abnahme von vorne nach hinten, sondern in einem wellenförmigen Wechsel stärkerer und schwächerer Amplituden und ergibt so in cranio-caudaler Richtung ein Intensitätsmuster von:

	<i>schwach</i>	<i>stark</i>	<i>schwach</i>	<i>stark</i>	<i>schwach</i>	<i>stark</i>
für:	rostraler	in der	kurz vor	Ring-	unmittel-	End-
	Rumpf-	Milzre-	der Ring-	falte	bar hin-	darm
	darm hinter	gion	falte		ter der	bis
	der Leber				Ringfalte	After

Die Faltenbildung des Oesophagus erfolgt später als im Rumpfdarm und zu einer Zeit, da nur noch im caudalsten Bereich kurz vor dem Ductus pneumaticus ein epithelialer Verschluss besteht. Mit der Faltenentstehung des Magens, die sich zu gleicher Zeit in dessen mittlerem Abschnitt geltend macht, steht sie nicht in

Beziehung. Die Ontogenese des Reliefs stellt also keinen einheitlichen, in cranio-caudaler Richtung fortschreitenden Prozess dar, sondern nimmt aus drei voneinander getrennten Zonen ihren Ursprung. Dabei steht die zuerst im Mitteldarm einsetzende, histologische Differenzierung der Mucosa in völligem Gegensatz zu der Beobachtung, dass der Magen in seiner Entwicklung allen anderen Darmteilen vorauseilt, wie dies für *Salmo irideus*, *Trutta fario*, *Lophius* und für höhere Wirbeltiere bestätigt worden ist.

5. Die Fundusdrüsen erscheinen zunächst als knospenförmige Anlagen am Grunde der Falten, in die sich — bei allmählichem Auswachsen derselben in die Tiefe — das Lumen des Magens fortsetzt. Die Entwicklung erfolgt ähnlich, wie sie EGOUNOFF (1907) für *Trutta fario* und GÜNTERT (1938) für *Salmo irideus* beschrieben haben. Erst sehr spät gelangen Pylorusdrüsen zur Ausbildung.

6. Im Lauf der Ontogenese lässt sich ein Stadium nachweisen, in welchem die quergestreifte Muskulatur des Oesophagus weit über die rostrale Zone der Magendrüsen hinausreicht. Doch wird dieser Zustand durch das Auswachsen der caudalen Magenpartie bald verwischt und so das den Adulten entsprechende Verhältnis hergestellt, bei dem die Übergangszone von quergestreifter zu glatter Muskulatur rostral vor der Zone der Fundusdrüsen liegt.

7. Im Stadium H der Embryonalphase setzt die an den verlagerten Mündungsstellen der Anhangsdrüsen ablesbare Torsion des Darmes von links nach rechts — also in entgegengesetztem Sinne der Drehung des Uhrzeigers ein, die bis ins Stadium der post-embryonalen Anheftungsphase andauert. Da sich — mit Ausnahme der Reptilien — in der ganzen Wirbeltierreihe von den Selachiern an aufwärts konstant eine mehr oder weniger ausgeprägte Achsendrehung von rechts nach links feststellen lässt (ANDERS 1925), würde dies bei *Esox lucius* ein vom allgemeinen Prinzip abweichen-der Befund bedeuten. Die charakteristische Torsion um 90° wird im Stadium 3 der Anheftungsphase durch eine Retorsion vollständig aufgehoben.

8. Eine nur kurze Zeit persistierende, in ihrem proximalen Abschnitt kompakte, in ihrem distalen Teil eine geringe Höhlung aufweisende Kloake verbindet die beiden ebenfalls kompakten Enden der primären Harnleiter mit dem gleichfalls soliden, blinden

Ende des Rumpfdarmes. Aus der Vereinigung des Lumens der Kloakenhöhle mit dem der Urnierengänge resultiert die primitive Harnblase, von der sich rostro-ventral das blinde Endstück des Darmes abschnürt, relativ spät die Körperoberfläche erreicht und zum sekundären, definitiven After durchbricht.

Für eine kurze Zeit lässt sich ein Schwanzdarm nachweisen, dessen früh einsetzende Reduktion in cranio-caudaler Richtung sich vollzieht.

9. Es wird der embryologisch-histologische Nachweis einer aus dem Darmepithel entstehenden, kompakten, ventralen Leberanlage erbracht, für die LERBOULLET (1862) rein äusserlich eine solche konstatierte.

10. Die Gallenblase wird angelegt als eine Ausstülpung der caudalen Wand des primären Leberganges — unweit seiner Mündungsstelle in den Darm. Der dadurch von einem eigentlichen Ductus hepaticus abgetrennte Ductus choledochus erfährt im Laufe der Verlagerung der Gallenblase rostralwärts eine an der Lage der Mündungsstelle des Ductus cysticus ablesbare Achsendrehung um 180° .

11. Die Mündungsstelle des Ductus choledochus fällt auch ontogenetisch nie vollständig mit der Pylorusgrenze zusammen, sondern liegt stets etwas caudal von ihr im Gewebe des Mitteldarmes — in den frühesten Stadien unweit des Pylorus. Erst mit einsetzender „Kniebildung“ des Mitteldarmes vergrössert sich der Abstand Pylorus — Ductus choledochus beträchtlich, wodurch der Adultzustand herbeigeführt wird. Die Vorderdarmgrenze wird also auch ontogenetisch nur annähernd durch die Mündungsstelle des Ductus choledochus definiert.

12. Das unpaare Pancreas dorsalis entsteht etwas später als die Leberanlage, als kompakte Wucherung des dorsalen Darmepithels und wird infolge der Torsion des Darmes nach rechts verlagert. Ihrem Ursprungsort direkt gegenüber treten in Stadium J unmittelbar hinter dem caudalen Ende der Leberanlage die Knospen des paarigen, ventralen Pancreasanteils in Erscheinung. Da sich zu dieser Zeit die Leber noch auf einem sehr frühen Entwicklungsstadium befindet und ein eigentlicher Ausführungsgang vom Darm noch nicht abgeschnürt ist, nehmen die Knospen des ventralen Pancreas

ihren Ursprung nicht wie bei der Forelle aus dem primären Lebergang (GÖPPERT 1893), sondern direkt aus dem Darmepithel. Das dorsale, unpaare Pancreas verwächst schliesslich mit dem rechten Anteil des Pancreas ventralis und gibt seine Verbindung zum Darm auf, sodass letztendlich nur noch eine, allen drei Pancreasanteilen gemeinsame Mündungsstelle persistiert.

13. Die früheste, kompakte Anlage der Schwimmblase als Epithelwucherung der dorsalen, durch Torsion nach rechts verlagerten Darmseite erscheint zum gleichen Zeitpunkt wie die Anlagen des Pancreas ventralis.

14. Auch für *Esox lucius* konnte eine aus dem Epithel des Mundbodens hervorsprossende, keulenförmige Anlage der Thyreoidea histologisch nachgewiesen werden.

15. Bei der caudal von der Rachenhaut gelegenen Anlage der Adenohypophyse bleibt die Zugehörigkeit zu einem bestimmten Keimblatt unentschieden, da sich zu einem sehr frühen Zeitpunkt ekto- und entodermales Material wahrscheinlich vermischen, was sich jedoch bei der Gleichförmigkeit des Zellmaterials histologisch nicht verfolgen lässt.

16. Die von MAURER (1886) an der Forelle entdeckte, aus knospenförmigen Anlagen mehrerer Visceralspalten entstehende Thymus, konnte auch für den Hecht nachgewiesen werden. Die Zellwucherungen treten an der caudal gerichteten Wand der 3., 4., 5. und 6. noch geschlossenen Visceraltasche auf und verwachsen früh zueiner einheitlichen, lateral von den dorsalen Kiemenbogenenden gelegenen Thymusleiste.

17. Die früheste Differenzierung der Pseudobranchie tritt im Stadium 1 der Anheftungsphase an der dorsalen Wand der ersten Visceralspalte in Erscheinung. Sie war MAURER (1884), der den frühen Einbau dieses Organes in die Schädelbasis beim Hecht beobachtet hat, noch nicht bekannt.

18. Die für *Esox lucius* charakteristischen, paarigen Haftorgane stellen ektodermale, nur aus der Deckschicht hervorgehende Drüsengorgane dar, (ein Bildungstyp, den JONES cit. nach ILG, 1952 nur für die Anuren zutreffend hält). Die Sinnesschicht bleibt daran unbeteiligt. Damit erhält die von LIEBERKIND vertretene Ansicht,

dass die Anamnierhaftorgane konvergente Bildungen polyphyletischer Entstehung seien, eine Stütze. Das zu hohen Falten aufgeworfene Epithel setzt sich fast ausschliesslich aus kolbenförmigen bis kubischen Zylinderzellen merokriner Natur zusammen, die offensichtlich das Haftsekret hervorbringen. Sie färben sich nicht mit Mucicarmin. Relativ selten, besonders an den lateralen Rändern der Drüsenpolster treten auch schleimbildende, mit Mucicarmin färbbare Becherzellen auf, von derselben Art, wie sie für die normale Epidermis typisch sind. Kugelige Vakuolen verschiedener Grösse können zuweilen unregelmässig im Gewebe der Haftdrüsen zerstreut sein. Oft können sie auch fehlen. Sie gleichen in Bau, Inhalt und Färbung jenen dotterhaltigen Vakuolen, die schon in den frühesten, embryonalen Stadien überall im Keim zu finden sind (besonders an Orten der Neubildung und des Wachstums wie z. B. im Dotterentoderm unter der Wachstumszone des Schwanzes).

19. Während der letzten Stadien der Anheftungsphase und den ersten Stadien der freien Phase treten eigentümliche „Blasenzellen“ in der durch besondere Intensität des Wachstums und der Differenzierung ausgezeichneten, medialen Zone der Bauchhaut auf, die am ehesten serösen Drüsenzellen des ersten von RABL (1931) beschriebenen Typus gleichzusetzen sind und — in niederer Epidermis vorkommend — analog den Kolbenzellen evtl. auch zur Festigung der Haut beitragen.

20. Die Schuppenbildung setzt zu einem relativ sehr späten Zeitpunkt ein.

21. Einzellige, die Eikapsel abbauende Fermentdrüsen der embryonalen Epidermis, wie sie WINTREBERT (1912) für *Salmo irideus* und *Carassius auratus* nachgewiesen hat, kommen beim Hecht nicht vor.

22. Anhand von 29 Linearmassen wurde versucht, das Wachstum und die während der Ontogenese auftretenden, zum Adultzustand überführenden Formveränderungen biometrisch zu erfassen. Es lassen sich vier besonders charakteristische Wachstumsetappen feststellen, die mit dem Stadium 3 der Anheftungsphase bzw. dem Stadium I, II, IV der freien Phase zusammenfallen. Es konnte ermittelt werden, dass mit dem Stadium IV der freien Phase fast allen Teilstrecken ein isometrisches Wachstum zukommt. Dieser

Befund berechtigt zu der Annahme, dass mit diesem Stadium der Adultzustand, der bei unserer Definition nicht mit der Geschlechtsreife zusammenfällt, annähernd erreicht ist.

LITERATURVERZEICHNIS

- ANDERS, H. E. 1925. *Die Genese der angeborenen Stenosen und Atresien des menschlichen Darmkanals im Lichte der vergleichenden Entwicklungsgeschichte*. Erg. d. Anat. u. Entw.-geschichte 26: 343-462.
- AUBERT, H. 1854. *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Fische*. Zschr. wiss. Zool. 5.
- 1856. *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Fische*. Zschr. wiss. Zool. 7.
- BALFOUR, Fr. M. 1881. *Handbuch der vergleichenden Embryologie*, übers. v. B. Vetter. 2 Bd., Jena.
- BARTH. 1868. *Beitrag zur Entwicklung der Darmwand*. Wiener Sitz.-ber., Bd. 8, II. Abtlg. (cit. nach Güntert, 1938).
- BERTALANFFY, L. v. 1951. *Theoretische Biologie*, II. Bd., Bern.
- BOLK, GÖPPERT, KALLIUS, LUBOSCH. 1931. *Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere*, Bd. I, II, III, IV.
- BRACHET, A. 1935. *Traité d'embryologie des vertébrés*. Paris.
- EBERL-ROTHE, G. 1952. *Ueber die Entwicklung der Darmschleimhaut des Karpfens*. Zschr. mikrosk. anat. Forschg. 59: 364-384.
- EDINGER, L. 1877. *Ueber die Schleimhaut des Fischdarmes nebst Bemerkungen zur Phylogenese der Drüsen des Darmrohres* XIII: 651-692.
- EGOUNOFF, S. 1907. *Développement histologique du tube digestif de la truite*. Revue suisse 15: 19-74.
- EINSELE, W. 1948. *Wachstum und Futterverbrauch des Hechtes*. Oesterreichs Fischerei, 1. Jhg., 1: 7-11.
- 1953. *Seen, Flüsse, Staue und Teiche erhielten Hechtbesatz*. Sonderdruck Oesterreichs Fischerei, 6. Jhg., 33-37.
- FROLIOP, A. 1906. *Die Entwicklung des Auges der Wirbeltiere*. i. Handbuch der vergl. u. exp. Entw.-gesch. d. Wirbelt. v. O. Hertwig, 2. Bd., 2. Teil, p. 173.
- GEIGY, R. und A. PORTMANN. 1941. *Versuch einer morphologischen Ordnung der tierischen Entwicklungsvorgänge*. Natw. 29: 734-743.
- GEGENBAUR, C. 1901. *Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere mit Berücksichtigung der Wirbellosen*, Bd. 2.
- GENSCH, Hugo. 1882. *Das sekundäre Entoderm und die Blutbildung beim Ei der Knochenfische*. Diss. Königsberg, 1-29.
- GÖPPERT, E. 1893. *Die Entwicklung des Pancreas der Teleostier*. Morphol. Jhb., 20: 90-111.

- GRIEB, A. W. 1932-33. *Zur Frage von der Entstehung des Kiemendarmes bei Teleostei*. Zool. Jhb., Abtlg. Anat. u. Ontog. d. Tiere Bd. 56, 1: 37-53.
- GÜNTERT, H. 1938. *Ueber die Entwicklung der Schleimhautfalten des Darmes von Salmo irideus Gibb.* Sitz.-ber. d. Akad. Wiss. Wien, 147, 1: 1-29.
- HALLER, B. 1898. *Untersuchungen über die Hypophyse und die Infundibularorgane*. Morphol. Jhb. 25: 31-114.
- HOPKE, W. 1931. *Das Wachstum des Junghechtes*. Mitteilg. d. Fisch.-vereins Ost.
- HARDER, W. 1953. *Zum Formwachstum des Herings*. Zschr. Morph. u. Oekol., 42: 209-224.
- HENNEGUY, F. 1888. *Recherches sur le développement des poissons osseux (Embryogénie de la truite)*. Journal de l'Anat. et de la Physiol., 24^e année, I. Teil, pp. 413-502.
- HERTWIG, O. 1906. *Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere*, Bd. 1, 2, 3.
- 1915. *Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen und der Wirbeltiere*. Jena.
- ILG, L. 1952. *Ueber larvale Haftorgane bei Teleosteen*. Zool. Jhb. Abtg. Anat. u. Ontog., 72: 577-600.
- JABLONOWSKI, J. 1899. *Ueber die Bildung des Medullarstranges beim Hecht*. Abhdlg. u. Ber. d. Zool. Museums zu Dresden, Festschrift A. B. Meyer 7: 1-18.
- JACOBSHAGEN, E. 1911-1915. *Untersuchungen über das Darmsystem der Fische und Dipnoer*. Jen. Zschr. f. Natw. 47: 529-568, t. 1; 49: 373-810, t. 2; 53: 445-556, t. 3.
- KEHRLI, U. 1934. *Contribution à l'étude tératologique du brochet (Esox lucius)*. Thèse, Neuchâtel, 1-34.
- KLUST, G. 1939/40. *Ueber Entwicklung, Bau und Funktion des Darmes beim Karpfen*. Intern. Revue d. ges. Hydrobiol. u. Hydrogr. 39/40: 88-173 u. 498-536.
- KOPSCH, Fr. 1898. *Die Entwicklung der äusseren Form des Forellen-embryo*. Arch. f. mikr. Anat., 51: 181-213.
- 1900. *Homologie und phylogenetische Bedeutung der Kupfferschen Blase*. Anat. Anz. 17: 497-509.
- KORSCHULT und HEIDER. 1936. *Vergleichende Entwicklungsgeschichte der Tiere*, Bd. 1 u. 2. Jena.
- KRAUSE, R. 1923. *Mikroskopische Anatomie der Wirbeltiere*. IV. Teleostier, pp. 610-682.
- KRYSANOWSKI, S. G. 1934. *Die Atmungsorgane der Fischlarven*. Zool. Jhb., Abtg. Anat. u. Ontog. 58: 21-60.
- 1934. *Die Pseudobranchie*. Ibid., pp. 171-236.
- KUPFFER, C. v. 1884. *Die Gastrulation an meroblastischen Eiern der Wirbeltiere und die Bedeutung des Primitivstreifs*. Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abtg., pp. 1-40.

- LAGUESSE, E. G. 1890. *Recherches sur le développement de la rate chez les poissons*. Thèse, Paris, pp. 1-136.
- LEREBOULLET, D. A. 1854. *Résumé d'un travail d'embryologie comparée sur le développement du brochet, de la perche et de l'écrevisse*. Ann. Sci. Nat. (Zool.), IV^e sér., 1: 237-289.; 2: 39-80.
- 1862. *Recherches d'embryologie comparée sur le développement du brochet, de la perche et de l'écrevisse*. Mémoires savants étrangers Akad. Sci. Paris, 17: 447-805.
- LIEBERKIND, A. 1937. *Vergleichende Studien über die Morphologie und Histogenese der larvalen Haftorgane bei den Amphibien*. Diss., Kopenhagen, 1-180.
- LINDROTH, A. 1946. *Zur Biologie der Befruchtung und Entwicklung beim Hecht*. Mittlg. Anstalt f. Binnenfisch. Drottningholm, Stockholm, pp. 1-174.
- MAURER, F. 1884. *Ein Beitrag zur Kenntnis der Pseudobranchien der Knochenfische*. Morphol. Jhb., 9: 229-251.
- 1886. *Schilddrüse und Thymus der Teleostier*. Ibid., 11: 129-175.
- 1888. *Die Kiemen und ihre Gefäße bei anuren und urodelen Amphibien und die Umbildung der beiden ersten Arterienbogen bei Teleostiern*. Ibid., 14: 175-222.
- MAYENNE, V. A. 1925. *Zur Frage des Wachstums des Hechtes*. Allg. Fisch.-ztg., Jhg. 50, Nr. 20.
- MULLEM, P. J. v. und W. VERWOORT. 1953. *Two promising histological technics especially for chitinous and yolk containing material*. Proc. Nederl. Akad. v. Wetenschappen, Ser. C, 56.
- NAWRATIL, O. 1954. *Zur Biologie des Hechtes im Neustädlersee und im Attersee (mit Berücksichtigung der Wachstumsgeschwindigkeiten)*. Oesterreich. Zool. Zschr. 4: 489-530.
- OPPEL, A. 1896-1900. *Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie*, Bd. I, II, III. Jena.
- PALMGREN, A. 1954. *Tape for microsectioning of very large hard or brittle specimens*. Nature, 174.
- PATZELT, V. 1882. *Ueber die Entwicklung der Dickdarmschleimhaut*. Sitz.-ber. Wien, Bd. 86, Abtg. III (cit. n. GÜNTERT, 1938).
- PETER, K. 1947. *Grundlagen einer funktionellen Embryologie*. Leipzig.
- PETERSEN, H. 1908. *Beiträge zur Kenntnis des Baues und der Entwicklung des Selachierdarmes*. Diss., Jena (cit. n. GÜNTERT, 1938).
- PORTMANN, A. und G. METZNER. 1929. *Die Verbindung von Leber und Dottersack bei Teleostierlarven*. Verhdlg. d. Naturf. Ges. Basel, Bd. XL, 2. Teil, pp. 271-279.
- REICHERT, K. B. 1856. *Ueber die Mikropyle der Fischeier*... Müllers Arch. Anat. Physiol.
- 1856. *Ueber... und die sogenannten Rotationen des Dotters im befruchteten Hechtei*. Ibid.
- 1857. *Der Nahrungsdotter des Hechteies — eine kontraktile Substanz*. Ibid., pp. 46-51.

- REINKE, W. 1937. *Zur Ontogenie und Anatomie des Geruchsorganes der Knochenfische*. Zschr. Anat. u. Entw.-gesch. 106: 600-624.
- ROMEIS, B. 1948. *Mikroskopische Technik*. München.
- ROSENBERG, A. 1867. *Untersuchungen über die Entwicklung der Teleostiierniere*. Diss., Dorpat, 1-75.
- ROTHLIN, E. 1932. *Ein Narkotikum für Kaltblüter*. Schweiz. Med. Wochenschr., 62.
- SCHÄPERCLAUS. 1933. *Lehrbuch der Teichwirtschaft*.
- SCHINDLER, O. 1934. *Ueber die Brut von vier einheimischen Süßwasserfischen (Aesche, Hecht, Flussbarsch, Karpfen)*. Allg. Fisch.-ztg., Bd. 59, 20: 305-319.
- 1935. *Zur Biologie der Larven von Barsch und Hecht*. Zool. Anz., 8. Suppl.-bd., pp. 141-149.
- 1946. *Einiges über die Lebensgewohnheiten und Zucht des Hechtes*. Allg. Fisch.-ztg., 7, 8, 9, 10 (nicht erhältlich).
- SCHMIDT, W. 1915. *Ueber den Darmkanal von Lophius piscatorius L. (Ein Beitrag zur Histogenese der Magendrüsens der Fische)*. Jen. Zschr. f. Natw., Bd. 53 (cit. n. GÜNTERT, 1938).
- SCHWARZ, D. 1889. *Untersuchungen des Schwanzendes bei den Embryonen der Wirbeltiere*. Zschr. f. wiss. Zool., Bd. 48, auch Diss., Strassburg, pp. 191-223.
- SEWERTZOFF, A. N. 1934. *Evolution der Bauchflosse der Fische*. Zool. Jhb. Abtg. Anat. u. Ontog., 58, 1: 414-500.
- SMALLWOOD, W. M. and M. L. SMALLWOOD. 1931. *The development of the carp*. I. Teil: *The larval life of the carp, with special reference to the development of the intestinal canal*. J.-Morphol., Vol. 52; II. Teil: *The development of the liver, pancreas, the islands of Langerhans and the spleen*. Ibid. Vol. 55 (1933/34) pp. 15-28.
- SPRENGER, K. 1945. *Biologische Studien an Brustflossen junger Bachforellen (S. fario)*. Diss., Basel, pp. 421-504.
- STEINMANN, P. 1936. *Die Fische der Schweiz*. Aarau.
- STÖHR, Ph. 1882. *Zur Entwicklung des Kopfskelettes der Teleostier*. Festschrift d. med. Fak. Würzburg, II: 73-93.
- 1893. *Die Entwicklung von Leber und Pancreas der Forelle*. Anat. Anz., 8. Jhg., 5: 205-208.
- SWIRSKI, G. 1880. *Untersuchung über die Entwicklung des Schultergürtels und des Skeletts der Brustflosse des Hechtes*. Diss., Dorpat, pp. 1-60.
- TRUMAN. 1869. *Observations on the development of the ovum of the pike*. Monthly microsc. Journ., II: 185-204.
- VOIGT, J. 1898. *Zur Entwicklung der Darmschleimhaut*. Nachr. v. d. kg. Ges. d. Wiss. Göttingen, mathem.-naturw. Kl. (cit. n. GÜNTERT, 1938).

- WALTHER, J. 1883. *Die Entwicklung der Deckknochen am Kopfskelett des Hechtes*. Jen. Zschr. f. Med., XVI: 59-87.
- WETZEL, A. 1931. *Paraffineinbettung über Terpeneol oder Methylbenzoat unter Vermeidung von abs. Alkohol und Benzol (Xylol, Chloroform) für schwer schneidbare Objekte*. Zschr. wiss. Mikrosk., 48.
- WIEDERSHEIM, R. 1906. *Grundriss der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere*. Jena.
- WILLER, A. 1924. *Die Nahrungstiere der Fische*. Handbuch d. Binnenfisch. M.-E. 1: 145-230.
- 1928. *Untersuchungen über das Wachstum bei Fischen*. Zschr. II, IV, Fischerei, 26.
- 1933. *Untersuchungen über das Wachstum bei Fischen*, VI. Ibid., 31.
- WINTREBERT, P. 1912. *Le mécanisme de l'éclosion chez la Truite arc-en-ciel*. C. R. Soc. d. Biol., Bd. 64, 1: 724-727.
- 1912. *Le déterminisme de l'éclosion chez le Cyprin doré (Carassius auratus)*. Ibid., Bd. 64, 2.
- WUNDER, W. 1935. *Das Verhalten von Knochenfischen beim Ausschlüpfen aus dem Ei und in den ersten Lebenstagen*. Zool. Anz., 8. Suppl. bd., pp. 61-65.
- 1936. *Physiologie der Süßwasserfische Mitteleuropas*. Stuttg.
- WUNDSCH, H. 1931. *Nahrung, Verdauung und Stoffwechsel der Fische*. Handbuch der Ernährung und des Stoffwechsels d. landw. Nutztiere, 3. Bd. (cit. n. KLUST, 1939/40).
- WURMBACH, H. 1951. *Ueber Wachstum und Altern der Fische*. Zschr. f. Altersfg. 5: 277-293.
- ZIEGLER, H. E. 1882. *Die embryonale Entwicklung von Salmo salar*. Diss., Freiburg (Brg).
- 1887. *Die Entstehung des Blutes bei Knochenfischembryonen*. Arch. f. mikr. Anat., 30: 596-687.
- 1894. Anat. Anz., Erg.-h. 9: 90.
- 1902. *Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere*. Jena.
-

Sur la faune européenne des Collemboles I.

par

Hermann GISIN

Muséum d'Histoire naturelle de Genève

(Avec 13 figures dans le texte.)

Brachystomella nubila n.sp. (fig. 1-4)

JUSTIFICATION. — C'est la troisième espèce européenne sûre du genre, après *B. parvula* (Schäff.) et *B. curvula* Gis. Elle se distingue des deux premières par un postantennal formé de 4 tubercules seulement (contre 6) et par la présence de 3 + 3 (contre 2 + 2) microchètes dorso-centraux à l'abd. V entre les 2 macrochètes (cf. fig. 1). Les dents portent 6 poils, comme chez *curvula*

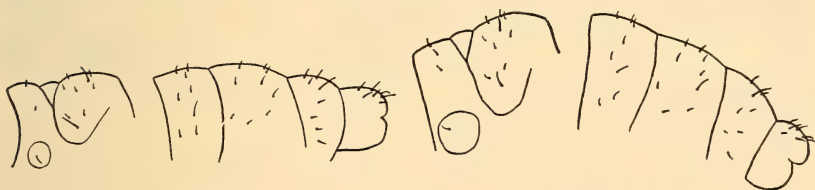


FIG. 1.

Brachystomella nubila, n. sp.
Chétotaxie des tergites th. I-II,
abd. III-VI.

FIG. 2.

Brachystomella parvula (Schäff.).
Chétotaxie des tergites th. I-II,
abd. III-VI.

(contre 5 chez *parvula*). *B. nubila* n.sp. est peut-être voisine de *B. stachi*, des Etats-Unis, qui a cependant une vésicule antenne apicale entière (contre trilobée chez les espèces européennes) et dont on ignore la chétotaxie tergale.

DESCRIPTION. — Taille: 0,6-0,7 mm. Noir bleuâtre, plus foncé que les espèces voisines; face ventrale à peine plus claire que face

dorsale; aux grossissements plus forts, de nombreuses taches irrégulières plus claires apparaissent. Postantennal observable sur des exemplaires décolorés à la potasse seulement. Granulation cutanée uniformément fine. Chétotaxie cf. fig. 1 et 3. Face dorsale de la tête sans poil médian. Mandibule absente. Maxille à tête carrée, exactement comme chez *parvula*. Ant. I avec 7 poils. Sensilles olfactifs des antennes III et IV mal différenciés. Vésicule apicale distinctement divisée en 3 lobes terminales. Yeux et postantennal

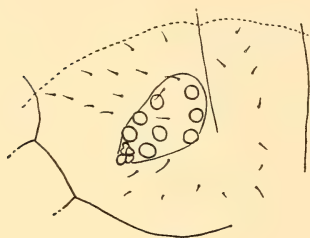


FIG. 3.

Brachystomella nubila n.sp.
Yeux, postantennal et chétotaxie
de la moitié gauche de la tête
(ligne pointillée = médiane).

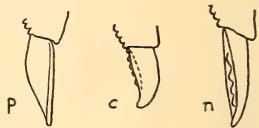


FIG. 4.

Mucrons de *Brachystomella*
parvula (p), *curvula* (c)
et *nubila* (n).

cf. fig. 3. Griffes très élancées, sans dents. Poils du tibiotarse non capités. Pas d'empodium. Tenaculum à 3 + 3 barbes, sans poil. Tube ventral avec 3 + 3 poils dont la paire postérieure insérée plus haut. Mucron/dens = 5/11. Mucron cf. fig. 4; sa forme intermédiaire entre celle de *parvula* et de *curvula*.

STATION. — Passeiry (Genève), vigne sur sol graveleux, très sec en été. Env. 50 exemplaires, 6-8-1953. Types au Muséum de Genève (Ga 1256).

A propos de la systématique des *Neanurinae* (fig. 5).

L'étude de l'espèce ci-dessus décrite m'avait amené à examiner pour la première fois la chétotaxie tergale de trois espèces de *Brachystomella*. J'ai ensuite étendu l'étude de ce caractère à d'autres genres, et j'en donnerai une documentation plus ample dans un ouvrage en préparation. Je voudrais cependant dès maintenant exposer un fait qui m'a frappé.

Les espèces de *Neanurinae* s. lat. dont la chétotaxie se rapproche le plus de celle de *Brachystomella* se recrutent dans le genre *Pseudachorutes*. Je donne ici une figure de celle de *Pseudachorutes bougisi* Del.; elle est pour ainsi dire identique à celle de *Brachystomella*, non seulement en ce qui concerne le nombre et l'arrangement des poils, mais aussi quant à leurs longueur et épaisseur relatives. La disposition des poils dorsaux de *Pseudachorutes dubius* et de *Ps. parvulus* est exactement celle de *Ps. bougisi*, les poils sont seulement un peu plus courts.

Quant on connaît les variations spécifiques, souvent irréductibles, de la chétotaxie au sein de genres voisins, tels qu'*Anurida* ou *Odontella*, on doit s'étonner de la stabilité de ce caractère complexe chez cinq espèces qui appartiendraient, selon les conceptions les



FIG. 5. — *Pseudachorutes bougisi* Del.
Chétotaxie des tergites, th. I-II, abd. III-VI.

plus récentes de quelques spécialistes, à deux familles et trois genres différents, définis par la conformation de leurs maxilles: *Brachystomellidae*, *Brachystomella*, *Pseudachorutidae*, *Pseudachorudina* (*bougisi*), *Pseudachorutes* (*parvulus*, *dubius*).

Le critère des pièces buccales révèle-t-il vraiment des affinités naturelles dans le groupe considéré ? Pour répondre à cette question, il convient de vérifier le comportement de l'ensemble des caractères, furca, postantennal, antennes, yeux, pattes, poils, etc. En procédant à cette vérification, on ne tarde pas à découvrir les liens étroits unissant les « *Pseudachorudina* », *Pseudachorutes* et *Brachystomella*, groupe s'écartant davantage des *Friesea*, *Odontella* et même *Anurida*. On devient alors sceptique quant à la valeur familiale ou générique attribuée par certains auteurs à l'étirement et à la denture de la tête maxillaire et on acquiert l'impression que cette valeur a été surestimée par système et sans fondements suffisants.

La famille des « *Brachystomellidae* » ne réunit rien qui soit homogène, par rapport aux genres voisins. Les deux groupes de genres

récemment proposés par Cassagnau (1955, pp. 140-141), basés exclusivement sur la plus ou moins forte denture des maxilles, sont également tout ce qu'il y a de plus artificiels: cette coupure passe au milieu d'un groupe de trois espèces (*falteronensis*, *alpina*, *palmiensis* = *conjugens*), qui sont si proches qu'on ne peut les distinguer — d'après les descriptions pourtant détaillées — que précisément par la conformation de la maxille.

Je crois aussi prudent de ne pas maintenir la vieille distinction trop peu fondée entre *Anurida* et *Micranurida*: cette prudence m'a tout de suite valu de découvrir que les auteurs décrivent parfois de « nouveaux » *Anurida* sans se rendre compte que leurs espèces avaient déjà été décrites sous *Micranurida*, ou vice versa. Exemples:

Anurida hexophthalmica Stach 1949 = « *Micranurida* » *sexpunctata* Handschin 1924;

« *Micranurida* » *polaris* Hammer 1954 = *Anurida remyi* Denis 1947.

Onychiurus subnemoratus n.sp.

JUSTIFICATION. — On ne connaissait jusqu'à présent qu'une seule espèce du groupe *armatus* chez laquelle les pseudocelles sont disposés suivant la formule 33/022/33342; c'est *nemoratus*. La nouvelle espèce partage ce caractère avec elle, mais s'en distingue par la chétotaxie du pronotum (i3m contre i2-), et par le sensille s de l'abd. V qui est plus court que les épines anales (contre plus long).

DIAGNOSE. — Taille des adultes: 1,5-1,7 mm. Ps. oc. dorsaux voir ci-dessus, face ventrale de la tête 1, subcoxes 1. Chétotaxie du th. I: i3m. Abd. V: M/s = 14-18/8-9 (ép. an. = 10). Epines anales normales (env. 2,5 fois aussi longues qu'épaisses à la base). Poils préspinaux de l'abd. VI insérés suivant deux lignes très fortement convergentes. Base du tube ventral avec 2 + 2 poils. Griffes avec une ébauche d'une dent interne. Autrement avec les caractères principaux de *O. armatus*.

STATIONS. — Wetzelsdorf (Graz, Autriche), forêt de *Fagus*, nombreux exemplaires en compagnie de *sublatus*, leg. W. KÜHNELT. Types au Muséum de Genève (Ic 12/13) et collection KÜHNELT.

Filzmoos in der Koralpe (Autriche), 1500 m, tourbière, nombreux exemplaires 19-9-1956, leg. E. POPP (Munich).

Neumarkt (Kärnten, Autriche), Tschaggobier, forêt de conifères (du type *Vaccinium myrtillus* — *Deschampsia flexuosa*, *Hylocomium*), moraine avec gneis, nombreux exemplaires. Collection H. Franz, W 77.

Koernhauserwald (Mattighofen, Salzburg, Autriche). Monoculture de *Picea*, nombreux exemplaires. Coll. H. Franz, W 125.

Onychiurus subarmatus n.sp.

JUSTIFICATION. — La nouvelle forme est très voisine d'*O. armatus* L. *sensu* Gisin. Caractères distinctifs:

1° Poils beaucoup plus longs: abd. V M/s = 18-20/8-9 (épines anales = 10); contre 11/6 chez *armatus*.

2° Insertions des poils présinaux déterminant deux lignes subparallèles; contre fortement convergentes.

3° Épines anales plus trapues: $2\frac{1}{3}$ fois aussi longues que larges à la base; contre 3 fois aussi longues chez *armatus*.

DIAGNOSE. — Taille: 1,4-1,8 mm. Ps. oc. 33/023/33343, face ventrale de la tête 1, subcoxes 1. Chétotaxie du th. I: i3-. Tube ventral avec 2 + 2 soies près de la base. Griffes inermes.

STATION. — Ochsenhausen (Oberschwaben, Allemagne), Reichenbach, Distr. IX, Abt. 7). Culture de *Picea*. 27-4-1956. Nombreux exemplaires. Types au Muséum de Genève (Ie 1). Matériel communiqué par le professeur H. FRANZ.

Onychiurus sublatus n.sp.

JUSTIFICATION. — En ce qui concerne la formule de pseudocelles et la disposition en parallèle des poils présinaux, cette forme concorde avec *latus* Gisin 1956 et *prolatus* Gisin 1956. Elle se distingue de ces deux espèces par la taille nettement plus petite, n'atteignant jamais 2 mm. Elle a les griffes et les épines anales relativement trapues, à peu près comme *latus*, mais manque du poil m au pronotum. Les proportions des poils M et s de l'abd. V servent aussi à distinguer la nouvelle espèce.

DIAGNOSE. — Taille: 1,4-1,85 mm. Ps. oc. 33/022/33343, face ventrale de la tête 1, subcoxes 1. Chétotaxie du th. I: i3-. Abd. V:

M/s = 24/7-8 (épines anales = 10). Epines anales environ 2,5 fois plus longues qu'épaisses à la base. Poils préspinaux de l'abd. VI insérés suivant deux lignes subparallèles. Base du tube ventral normalement avec 2 poils de chaque côté. Griffes ramassées, généralement avec une très faible dent interne. Autrement avec les caractères généraux d'*O. armatus*.

STATION. — Wetzelsdorf (Graz, Autriche), forêt de *Fagus*, leg. W. KÜHNELT. Types au Muséum de Genève, (Ic 12).

Cleland (Lancashire, Angleterre), champ cultivé, leg. S. MILNE, 1956.

Onychiurus vontörnei n.sp.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Cette espèce est d'abord caractérisée par sa formule de pseudocelles: 34/022/33353. Elle ne la partage avec aucune espèce actuellement connue, mais la formule est très voisine de celle de tout un groupe d'espèces apparentées, qui ont 3 + 3 ps.oc. au th. III et dont *O. vanderdrifti* peut être considéré comme le chef de file. Ensuite on reconnaît facilement *vontörnei* par l'extraordinaire longueur des poils, dont par exemple M de l'abd. V atteint 2½ fois la longueur des épines anales, qui ne sont pas spécialement courtes. Enfin, les poils préspinaux de l'abd. VI définissent deux parallèles et le pronotum porte des microchètes médiaux antérieurs (m) placés devant les macrochètes médiaux.

DESCRIPTION COMPLÉMENTAIRE. — Taille: 1,5-1,8 mm. Chéto-taxie du th. I: i3m. Bases du tube ventral avec 2 + 2 poils. Abd.V: M/s = 25/14 (ép. an. = 10). Epines anales à peine 2,5 fois plus longues qu'épaisses à la base. Abd. VI sans poil médian antérieur. Le plus médial des ps. oc. de l'abd. VI est séparé du suivant d'environ 4 rangs de grains cutanés; environ 2 rangs séparent celui-ci du ps. oc. extérieur du groupe dorsal. Griffes ramassées, pourvues d'une faible dent interne. Autrement, avec les caractères d'*O. armatus* quant à la furca, le postantennal (env. 30 bosses), l'org. ant. III, l'empodium, les ps. oc. ventraux et coxaux, habitus, etc.

STATION. — Klauswald, Turmkogel près Mariazell (Basse-Autriche), 110 m alt., pente N, forêt de *Picea* et *Fagus*, rendsina. Collection H. FRANZ (W 70), holotype et des paratypes au Muséum de Genève, d'autres paratypes chez le professeur FRANZ.

Onychiurus trivontörnei n.sp. (fig. 6).

POSITION SYSTÉMATIQUE. — L'espèce tombe dans le groupe caractérisé par la formule de pseudocelles de *vanderdrifti*: 34/023/33353. Elle s'isole par la présence d'un poil médian antérieur sur l'abd. VI (comme chez *quadriocellatus* Gis.), d'une paire de microchètes médiaux antérieurs (m) au pronotum, etc.

Le nom de la nouvelle forme fait allusion à des caractères qui la distinguent d'*O. vontörnei*, en compagnie duquel elle a été trouvée, à savoir 3 + 3 ps. oc. au th. III et 3 poils préspinaux antérieurs à l'abd. VI.

DESCRIPTION COMPLÉMENTAIRE. — Taille: 1,3-1,6 mm. Chéto-taxie du th. I: i3m. Bases du tube ventral avec 2 + 2 poils. Abd. V: M/s = 18-20/9 (ép. an. = 10). Epines anales à peine 2½ fois aussi longues qu'épaisses à la base. Insertions des poils préspinaux dorsolatéraux de l'abd. VI déterminant deux lignes très faiblement convergentes, presque parallèles. Poil médian antérieur inséré au même niveau, ou à peine un peu plus en avant que les poils préspinaux antérieurs (fig. 6). Ps. oc. de l'abd. IV comme chez *vontörnei*. Griffes ramassées, avec l'ébauche d'une dent interne. Autrement avec les caractères d'*O. armatus*.



FIG. 6. — *Onychiurus trivontörnei* n.sp.
Abd. VI.

STATION. — Klauswald, Turmkogel près Mariazell, même échantillon que *O. vontörnei*. Collection Franz (W 70). Holotype et des paratypes au Muséum de Genève, d'autres paratypes chez le professeur H. FRANZ.

Ibidem, forêt de Picea. Leg. H. FRANZ (W 129).

Onychiurus s-vontörnei n.sp.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — C'est encore une espèce avec la formule de pseudocelles d'*O. vanderdrifti*: 34/023/33353. Les poils sont courts et les préspinaux de l'abd. VI sont insérés suivant deux lignes fortement convergentes, comme chez *vanderdrifti*. Mais il y a 1 + 1 microchètes médiaux (m) sur le pronotum,

comme chez *trivontörnei*. Et, surtout, les spécimens dépassant 1,7 mm de taille portent des poils supplémentaires s' sur abd. I-III et V, comme chez *campatus*.

DESCRIPTION COMPLÉMENTAIRE. — Taille: 1,3-1,9 mm; les spécimens de 1,3-1,6 mm montrent un orifice sexuel normalement développé, le nombre complet de ps. oc. et le poil m au th. I, mais point ou pas tous les poils s' aux abd. I-III et V. Chétotaxie du th. I: i3m. Base du tube ventral avec 2+2 poils. Abd. V: M/s = 12/7 (ép. an. = 10). Epines anales environ 2,5 fois plus longues qu'épaisses à la base. Abd. VI sans poil médian antérieur. Arrangement des ps. oc. de l'abd. IV comme chez *vontörnei*. Griffes avec une dent interne plus ou moins distincte. Autrement avec les caractères d'*O. armatus*.

STATION. — Klauswald, Turmkogel près Mariazell (Basse-Autriche), même échantillon qu'*O. vontörnei*. Coll. Franz (W 70). Holotype et des paratypes au Muséum de Genève; d'autres paratypes chez le professeur H. FRANZ.

Ibidem; forêt de Picea. Coll. Franz (W 130).

Onychiurus pseudovanderdrifti n.sp.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Voici une quatrième espèce qui partage la formule de pseudocelles avec *O. vanderdrifti*: 34/023/33353. Elle s'isole surtout par la longueur des poils, le macrochète M de l'abd. V dépassant deux fois la longueur des épines anales, et par l'insertion sur deux lignes subparallèles des poils préspinaux de l'abd. VI.

DESCRIPTION COMPLÉMENTAIRE. — Taille: 1,6 mm. Chétotaxie du th. I: i3-. Base du tube ventral avec 2 + 2 poils. Abd. V: M/s = 21-25/8-9 (ép. an. = 10). Epines anales environ 2,5 fois aussi longues qu'épaisses à la base. Les insertions des poils préspinaux (abd. VI) déterminent deux lignes se croisant au niveau du bord antérieur du segment; ces deux lignes sont donc plus convergentes que chez *vanderdrifti*, mais appréciées de profil, elles semblent parallèles. Les très grands individus portent souvent des poils s' sur abd. I (parfois aussi sur abd. II ou III) mais jamais sur abd. V. Entre le plus médial des ps. oc. de l'abd. IV et le suivant, il y a

3 à 4 rangs de grains cutanés; puis 2 rangs séparent celui-ci de l'extérieur du groupe dorsal de ps. oc. rapprochés. Griffes relativement allongées avec une dent interne faible mais généralement distincte. Autrement, avec les caractères d'*O. armatus*, en ce qui concerne ps. oc. coxaux et ventraux, empodium, organes sensoriels, furca, habitus, etc.

STATIONS. — Ochsenhausen (Oberschwaben, près Ulm, Allemagne S), Reichenbach, monoculture de *Picea*. 27.4.1956. Holotype et des paratypes au Muséum de Genève, d'autres paratypes chez le professeur H. FRANZ, qui a transmis le matériel (DD8 et DD5).

Kobernhauserwald, au S. de Braunau/Inn (Salzburg, Autriche), monoculture de *Picea*, quelques exemplaires Collection Franz (W 122).

Onychiurus cribrosus n.sp. (fig. 7).

JUSTIFICATION. — A la place de l'organe postannal, cette espèce extraordinaire ne présente qu'un mince sillon dans lequel la granulation cutanée normale est remplacée, sur 1-2 rangs de grains, par une vague granulation très fine de la peau, comme on l'observe d'habitude entre les bosses et le bord de la fossette d'un postantennal normal. De bosses postantennales, il n'y a pas trace.

On ne peut donc *a priori* pas placer cette espèce dans un des sous-genres ou groupes d'espèces traditionnels, basés sur le postantennal. Néanmoins, par les autres caractères, elle s'apparente indubitablement du groupe *argus-denisi* dans le groupe *ramosus*. Car son corps est criblé de pseudocelles en un surnombre et une irrégularité qui défie presque toute description. En outre, elle porte deux épines anales et les sensilles latéraux de l'organe antennaire III sont fortement granuleux.

DESCRIPTION. — Taille: 1,75(♂)-2,5(♀) mm. Habitus d'un *O. armatus*; abd. VI toutefois un peu régressé: sa face dorsale, vue de profil, forme avec l'axe du corps un angle d'environ 30°. Poils assez longs: le plus long macrochète de l'abd. V plus de deux fois plus long que les épines anales et presque 1½ fois la longueur de la crête interne des griffes III. Granulation cutanée presque uniformément fine, bases antennaires indistinctement individualisées. Org. ant. III avec 5 poils protecteurs, 5 papilles allon-

gées, finement granulées, 2 énormes sensilles latéraux très fortement bosselés, l'inférieur incliné à environ 45° , le supérieur plus droit, et 2 sensilles centraux habituels.

Griffes inermes, élancées; empodium graduellement effilé, atteignant à l'apex de la griffe.

Pseudocelles: faces tergaux et pleurales: tête cf. fig. 7; bases antennaires quelquefois aussi avec 4 ps. oc.; th. I 6-8 répartis sur toute la surface sauf la région médiane; th. II-abd. V chacun avec plus d'une dizaine de ps. oc, concentrés particulièrement sur les côtés et laissant un champ transversal antéro-médian libre; abd. VI sans ps. oc. Face ventrale: tête 1 antérieur et 1 à l'angle postéro-latéral; th. sans ps. oc.; abd. I-IV 3-6, près des bords postérieurs; pas de ps. oc. aux environs ni de l'orifice sexuel ni de l'anus.

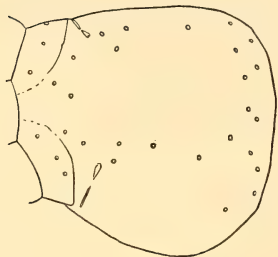


FIG. 7.

Onychiurus cribrus n.sp.
Face dorsale de la tête,
pseudocelles et sillons
postantennaux.

Epines anales faiblement courbées, élancées (quatre fois plus longues qu'épaisses à la base), placées sur des papilles basses, mais distinctes. Tube

ventral de chaque côté avec une douzaine de soies submarginales sur 2-3 rangs irréguliers et 2 soies basales. Pas trace de furca. Mâle sans organe ventral.

STATION. — Grotte des Dentaux, Rochers-de-Naye (préalpes vaudoises, Suisse), 1680 m. d'altitude, 16 exemplaires. Leg.: MM. ROTH, STRINATI et AELLEN, 16.9.1956. Types au Muséum de Genève (Ho 5).

Onychiurus subcribrus n.sp.

JUSTIFICATION. — Cette espèce est presque identique à *cribrus*; elle a un mince sillon postantennal sans bosses, un nombre excessif de pseudocelles et deux sensilles fortement granuleux dans chaque organe ant. III. Mais, contrairement à *cribrus*, elle est dépourvue d'épines anales et de papilles anales. Ce caractère fait penser à *perforatus*, à *bertrandi* et surtout à *fistulosus*. Néanmoins

subcribrosus dérive de plus près de *cribrosus*; ces deux formes se distinguent en effet de *fistulosus* par un plus grand nombre de ps. oc. aux bases antennaires, dans la région comprise entre le sillon postantennal et le bord postérieur de la tête, au th. I et en somme sur tout le corps; puis leurs sensilles ant. III sont très grands, arrivant souvent à se toucher, tandis qu'ils sont toujours largement écartés chez *fistulosus*.

DESCRIPTION. — Taille: 1,65 (♂)-2,05 (♀) mm. A l'emplacement des épines anales, il y a deux poils ordinaires, implantés sans traces de papilles, à peu près aussi longs que les autres macrochètes du segment, et tout au plus un peu plus épais que ceux-ci. Le poil dorsal impair de l'abd. VI se trouve presque au niveau de ces poils homologues d'épines. Pilosité des tergites plutôt courte: les plus longs poils de l'abd. V ne dépassant pas la longueur des griffes. Granulation cutanée uniformément fine, bases antennaires pas du tout individualisées. Organe ant. III avec 5 poils protecteurs, 5 papilles allongées (dépassant nettement la longueur moyenne des poils protecteurs; contrairement à *fistulosus*), 2 sensilles très granuleux, dont l'inférieur est fortement incliné. Ant. IV, au tiers basal, devant l'organe ant. III, avec un tubule en logette (qui existe aussi chez *fistulosus* et *cribrosus*).

Griffes inermes, élancées, empodium graduellement effilé, atteignant à l'apex de la griffe. Pas trace de furca. Mâle sans organe ventral.

Ps. oc. comme chez *cribrosus*, avec les exceptions suivantes: face ventrale de la tête sans ps. oc. antérieur; en revanche, elle en porte 1 + 1 sur la région collaire devant les précoxes I. Th. II et III, ventralement, avec 2 + 2 ps. oc. placés devant et derrière les précoxes. Bases antennaires généralement avec 4 + 4 ps. oc.

STATIONS. — Hölloch, Muotatal (Schwyz, Suisse centrale), 3 ex. 2.10.1956, leg. MM. ROTH, STRINATI, AELLEN. Types au Muséum de Genève (Hh 17).

Onychiurus inferni Gisin 1956.

Lors de la description originale, je ne disposais que de deux spécimens, provenant du Hölloch (Schwyz). De nouvelles récoltes, faites par MM. AELLEN, ROTH et STRINATI dans la même grotte, permettent de compléter la description.

1° La taille des spécimens de cette espèce peut atteindre 1,6 mm (et non pas seulement 1,2 mm).

2° Le nombre normal des pseudocelles aux bases antennaires chez les individus bien adultes est de 5 (non pas de 4): il y en a 2 devant le postantennal, rapprochés entre eux d'environ 3 grains cutanés, puis 3 plus médiaux, disposés en triangle, éloignés du groupe des deux autres d'au moins 10 grains.

Folsomia nana n.sp. (fig. 8-9).

En 1939, BAGNALL a décrit *Folsomia manolachei*, en indiquant les caractères distinctifs suivants par rapport à *F. quadrioculata*: 1° taille plus réduite (0,6-0,8 mm contre 1,0-1,4 mm), 2° poils plus courts (les plus longs de l'abd. VI = 2 fois contre 3,5-4 fois la longueur du mucron), 3° 1 poil proximal impair de moins à la face ventrale des dents, 4° coloration plus foncée.

J'ai longtemps tenu cette espèce pour suspecte parce que je connaissais des populations « intermédiaires » et je me demandais si toutes ces formes ne représentaient pas des variations individuelles ou écologiques classables en une série continue. Je crois pouvoir aujourd'hui écarter cette hypothèse, fort d'un matériel renfermant des centaines de populations provenant de plusieurs pays d'Europe.

Je trouve en effet des hiatus entre *manolachei* et la forme « intermédiaire » (*nana* n. sp.), d'une part, et entre celle-ci et *quadrioculata*, d'autre part, de sorte que j'en arrive à la conception de trois espèces distinctes. J'ai toujours pu attribuer sans hésitation une population donnée à l'une des trois espèces. La distribution écologique et géographique est probablement caractéristique pour chacune d'elles. Trois fois seulement, j'ai trouvé deux espèces réunies dans un même échantillon de terre: *nana* et *quadrioculata* à Scanfs (Engadine, 1690 m, Suisse), prairie fumée, et à Wytham près Oxford (Angleterre), prairie sur sol calcaire (leg. A. MACFADYEN), enfin *manolachei* et *quadrioculata* à Milngavie près Glasgow (Ecosse), sous *Pteridium aquilinum* (leg. S. MILNE); la détermination de tous ces spécimens était toujours facile, même pour des individus de même taille, il n'y a pas eu de cas douteux.

DIAGNOSE. — La taille habituelle des individus à orifice génital développé est de 0,7-1,0 mm; certains exemplaires atteignent

jusqu'à 1,2 mm, mais c'est plutôt rare. Chez *F. quadrioculata*, en revanche, les exemplaires en dessous de 1,0 mm n'ont en général point d'orifice sexuel. La coloration est comme chez *quadrioculata*, tandis que celle de *manolachei* est nettement plus foncée, pour des

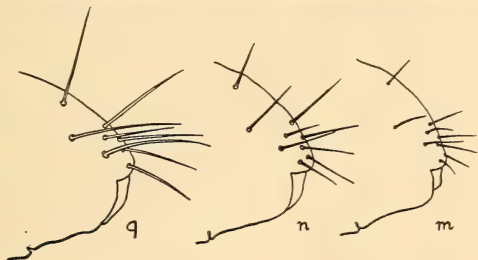


FIG. 8. — *Folsomia quadrioculata* (q), *nana* (n) et *manolachei* (m).
Macrochètes de l'extrémité de l'abdomen.

exemplaires de taille égale. Les plus longs poils de l'abd. VI mesurent 2,3-3,0 fois la longueur du mucron (*manolachei*: 2 fois; *quadrioculata*: 3,5-5 fois; fig. 8). Parmi les poils de la rangée postérieure de l'abd. III, les plus longs atteignent, mais ne dépassent à peine, la suture entre les abd. III et IV d'individus en complète extension

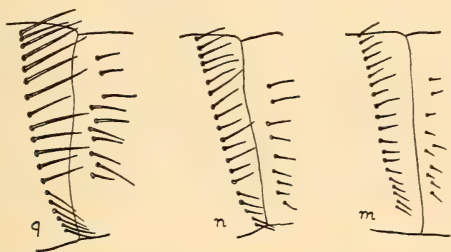


FIG. 9. — *Folsomia quadrioculata*, *nana* et *manolachei*.
Poils près de la suture entre abd. III et IV.

(fig. 9). Contrairement à ce qu'on pourrait attendre, la longueur des poils n'est pas sensiblement fonction de l'âge et de la taille des individus; même des jeunes sans orifice sexuel accusent déjà les rapports spécifiques. La chétotaxie des dents, chez *quadrioculata* et *manolachei*, est bien celle que BAGNALL a indiqué; mais ce caractère est trop sous la dépendance de l'état de développement des individus pour avoir une grande valeur pratique, surtout chez *F. nana*. La granulation cutanée est difficile à voir, spécialement

chez de jeunes exemplaires (chez *quadrioculata* elle est toujours distincte, chez *manolachei* invisible sans objectif à immersion).

Pour tous les autres caractères, je ne trouve point de différence d'avec *F. quadrioculata*.

STATIONS. — Pallhausen (Munich, Allemagne), forêt de bouleaux, sol très pauvre, sableux, humus acide (pH 4-5), pente S, nombreux exemplaires, 1954, leg. E. LAUER. Types au Muséum de Genève (If 21, 23). Dans d'autres biotopes de la même région, il n'a été trouvé que des *F. quadrioculata*.

Wytham Woods, près Oxford (Angleterre), prairie à *Brachypodium pinnatum*, sol calcaire. Leg. A. MACFADYEN, VI.1956.

Parc national suisse (Engadine), une cinquantaine de stations de divers biotopes, 1800 à 2500 m d'altitude.

Schynige Platte (Oberland bernois), environ 2000 m d'altitude, nombreuses stations à végétation alpine.

Rossrücken (Zillertalalpen, Autriche), coussinet d'Androsace, etc. 3100 m. Leg. H. JANETSCHKE.

ÉCOLOGIE. — *F. nana* remplace progressivement *F. quadrioculata* au-dessus d'environ 1700 m d'altitude dans les Alpes. Je n'ai que peu d'exceptions à cette règle: *Folsomia quadrioculata* a été trouvé à Il Fuorn, 1810 m, prairie fumée au-dessus de l'hôtel, tandis que, dans les biotopes environnants, soustraits à l'influence de l'homme, *F. nana* est commun. La terre des jardins à Scarl (1815 m) et des pâturages à l'alpe Plazer (échantillon sous une bouse de vache à 2000 m) n'hébergent que *F. nana*.

En plaine, *F. nana* semble rare, relégué peut-être dans des stations relictues.

Sminthurinus flammeolus n.sp. (fig. 10-11)

POSITION SYSTÉMATIQUE. — La nouvelle espèce présente un curieux mélange de caractères. Elle concorde avec *aureus* par le mucron et la coloration, avec *niger* par la chétotaxie dentale et l'appendice anal femelle. Elle s'écarte des deux par les soies circum-anales femelles non ailées et par l'absence de papille à l'ant. III. Enfin, l'abd. V est intermédiaire entre les deux types (fig. 10): sa face dorsale n'est pas complètement comprise dans l'arrondi de l'abd. IV, mais il n'en est pas non plus séparé par un sillon aussi profond que chez *niger*.

DESCRIPTION. — Taille: 0,75 mm. Coloration (en alcool) orangé; taches oculaires noires; antennes violacées, surtout ant. IV; pattes et furca claires; parfois des traces de pigment violet sur les flancs du grand abdominal (surtout autour des bases des trichobothries). Téguments finement granulés. Poils de la tête et du thorax tous également courts et fins, un peu plus longs vers abd. IV. Devant la trichobothrie inférieure de l'abd. IV, il y a un minuscule poil renflé, gardé par un poil ordinaire, mais tout aussi court. Trichobothrie de l'abd. V à peine plus épaisse que les poils ordinaires environnants (contrairement à celle de *S. aureus*).



FIG. 10.

Smithurinus flammeolus n.sp.
Abd. V et VI de profil, femelle.

Ant. II-IV = $1\frac{1}{2}$ fois la diagonale céphalique. Ant. II/III/IV = 30/39/74. Une papille ant. III n'est pas discernable; en revanche org. sensoriel ant. III distinct: 2 bâtonnets olfactifs. Ant. IV sans subdivisions. Maxille à tête ramassée (type *aureus*). 8 yeux de chaque côté, dont le central et un intérieur sont beaucoup plus petits que les autres (comme chez *aureus*). Griffe étroite, inerme, ou avec une dent interne minuscule dans le deuxième tiers de la crête; parfois il semble apparaître une sorte de tunique sous forme de lamelle disto-externe de la griffe. Empodium III avec lamelle pourvue d'une dent interne et d'un court filament apical, dont l'apex atteint à peine celui de la griffe. Tube ventral avec des filaments lisses. Tenaculum à *pars anterior* pourvu d'une fine soie apicale, 2 *rami* tridentés, et *pars posterior* arrondi. Chétotaxie dentale correspondant à celle de *niger*; en particulier, il y a — sans compter les poils du verticille subapical — 4 poils externes (2 distaux, 2 proximaux) et 3 poils ventraux (dont 2 placés en rang transversal devant le verticille, et 1 proximal; fig. 11). Mu/De = 20/45. Lamelle interne du mucron finement crénelée, l'externe lisse, bord ventral droit. L'appendice anal femelle, vu de dessous, est un bâtonnet droit, dont l'apex est divisé en 4-6 filaments divergents; de profil, il est fortement courbé et les branches ne peuvent alors

pas être comptées. Poils formant la couronne circum-anale chez la femelle (fig. 10), tous de longueur approximativement égale, ceux du lobe supérieur tous de même épaisseur (des macrochètes non ailés, non rétrécis à la base), l'impair, dorsal, non bifurqué; parmi ceux du lobe inférieur, le premier et le troisième (à compter de l'appendice anal) plus fins que les trois autres (de chaque côté). Mâle avec des poils très fins seulement sur abd. VI.

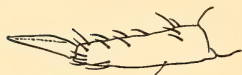


FIG. 11. — *Sminthurinus flammeolus* n.sp.
Dens et mucron,
face externe.

STATION. — Milngavie (Glasgow, Ecosse), feuilles mortes sous *Pteridium aquilinum*, nombreux exemplaires. I.1957. Leg. ST. MILNE. Types au Muséum de Genève (Qe 14).

Bourletiella (s. str.) *viridescens* Gisin 1948.

Synonymie: *Bourletiella hortensis* Stach 1956, non Fitch.
Bourletiella lutea Gisin 1946, non Lubbock.
Bourletiella signata var. *viridescens* Stach 1920.

Les figures publiées par STACH (1956) pour l'organe mâle de l'espèce qu'il appelle *hortensis* diffèrent nettement de celles publiées par FOLSOM (1924), qui a été le premier à étudier exactement cet organe chez *hortensis*. Ayant vu de nombreux exemplaires de cette espèce provenant de Suisse, de France, d'Allemagne et d'Autriche, je puis confirmer la constance de la forme allongée, dessinée par FOLSOM, des 2 + 2 crochets latéraux, dont les pointes divergent, l'une regardant en avant, l'autre en arrière (cf. aussi ma figure 5 h, 1946, ou fig. XII de JEANNENOT 1954). La figure de STACH, montrant des crochets plus trapus, d'épaisseur différente, et dirigés tous les quatre en arrière, correspond à la figure 5 l que j'ai publiée en 1946 (sous le nom de *B. lutea* Lubb.). Après avoir envoyé, en 1947, des spécimens de cette dernière forme à STACH, cet auteur m'a répondu qu'ils étaient identiques avec ce qu'il avait nommé, en 1920, *B. signata* var. *viridescens* Stach. Les regardant comme une espèce distincte de *hortensis* et de *lutea*, j'ai proposé, en 1948 (p. 501, note), et encore une fois en 1955, le nom de *Bourletiella viridescens*. D'après les nouvelles règles de nomenclature, l'auteur

qui le premier élève une variété au rang d'espèce, doit être cité comme auteur de cette dernière. Il est curieux que, dans sa monographie de 1956, STACH ne mentionne pas du tout sa « *var. viridescens* ».

La distinction que STACH (1956) fait entre son *B. arvalis* et son *B. hortensis* est celle que j'ai faite (GISIN 1955, p. 147) entre la forme de M^{me} JEANNENOT, nommée *lutea*, et mes *viridescens*. Quant à la synonymie supposée entre *lutea* Jeannenot, *lutea* Lubbock et *arvalis* Fitch, je continue d'attendre qu'on en fournisse la preuve, facile à donner par les chercheurs résidant dans les pays où les deux dernières formes sont fréquentes.

Bourletiella (Deuterosminthurus) sulphurea Koch 1840

Syn. nov.: *Deuterosminthurus gisini* Stach 1956.

Dans ma *Revision des espèces suisses du genre « Bourletiella »* (GISIN 1946), j'ai exposé ma découverte que les formes communément appelées *repanda* se composaient, en Europe centrale, de trois espèces parfaitement distinctes, toutes également communes. Les mâles de l'une sont caractérisés par la présence d'une paire de poils spiniformes allongés, implantés près de l'extrémité de l'abdomen. J'ai pensé retrouver là ce que KOCH (1840) a décrit pour son *sulphurea*: « eine Seitenborste vor der Spitze lang ».

Maintenant STACH (1956) rebaptise cette espèce sous prétexte que BÖRNER avait déjà en 1908 proposé la synonymie *sulphurea* = *repanda*. L'interprétation de BÖRNER n'est pas défendable: pour lui, la « Seitenborste vor der Spitze » serait la soie sensorielle du segment génital. Mais quelle raison KOCH aurait-il eue de caractériser *sulphurea* par une soie qui revient à tous les Sminthuridés! ? KOCH a décrit simultanément sept nouvelles espèces de cette famille. Cette soie sensorielle n'est de plus pas « vor der Spitze »; chez les *Bourletiella* elle est plutôt un « Haar » qu'une « Borste », et elle est beaucoup moins frappante que les poils épaissis mâles redécouverts par moi.

Peut-être aurais-je dû laisser dormir les noms de KOCH, mais on ne l'a déjà pas fait pour *bicincta*, universellement admis, et puis « le mal » est fait, *sulphurea* est introduit par ma révision de 1946 et par ma monographie écologique des Collembols épigés suisses

de 1948. Il est inopportun de changer encore, et il n'y a pas de bonne raison de le faire.

Je dénie à *Deuterosminthurus* le rang de genre; aucun des caractères indiqués par STACH (1956) dans sa table des « *Bourletiellini* » (p. 135) n'est valable dans tous les cas pour le distinguer de *Bourletiella s. str.*: 1^o comme je l'ai déjà dit (GISIN 1948, p. 498, note), *Deuterosminthurus quinquefasciatus* a le dos aussi bombé qu'un *Bourletiella s. str.*, c'est une espèce intermédiaire entre les deux « sous-genres ». 2^o STACH (1956, p. 158) confirme que la taille des soies ventrales de la moitié distale des dents ne permet pas de définir deux genres. 3^o Les mâles des deux groupes ont des caractères sexuels secondaires affectant l'abdomen VI.

La création de genres dans un groupe où la plupart des espèces restent à découvrir et à étudier à fond est une anticipation hasardeuse qui ne saurait que compliquer la tâche des systématiciens futurs. Ceux-ci se tireront alors le plus facilement d'affaire en créant toujours de nouveaux genres. Ainsi on aboutira au non-sens d'avoir finalement presque autant de noms génériques que de noms spécifiques. N'est-il pas plus logique de créer un langage technique aussi simple que possible, chargeant le moins possible la mémoire, plutôt que de le rendre cabalistique par la création d'une multitude de noms intelligibles et mémorisables pour les quelques spécialistes seulement pour lesquels, après tout, on ne fait pas ce langage. Les spécialistes, eux, ont à leur disposition les notions de sous-genres et de groupes d'espèces.

Bourletiella (D.) repanda (Ågren 1903).

Syn. nov. *B. mixta* Gisin 1946.

Depuis ma révision des *Bourletiella* du groupe *repanda* (GISIN 1946), la collection Ågren, déposée à l'Institut de Zoologie de Lund, est devenue accessible et grâce à l'aimable entremise de MM. P. BRINCK et H. BÖDVARSSON, j'ai pu examiner le matériel original de *B. repanda*. En 1946, je n'avais pas osé identifier une de mes espèces à *repanda*, car le dessin d'ÅGREN de l'appendice anal femelle ne correspondait pas tout à fait à ce que j'observais et les autres caractères distinctifs étaient inconnus pour cette espèce.

L'examen des types de *repanda* m'apprend que les dents des app. an. femelles sont plus grossières et moins nombreuses qu'il

n'apparaît sur le dessin original et que cette espèce s'identifie en tout point avec mon *B. mixta* Gisin 1946. Je confirme tous les caractères distinctifs énumérés dans mes tables de 1946 (p. 251) à l'exception de l'empodium qui n'atteint nettement les trois quarts des griffes que chez les mâles, tandis que chez les femelles, il n'en dépasse pas distinctement la moitié de la longueur. Le meilleur caractère de détermination est fourni par la chétotaxie de l'abd. VI du mâle et de la femelle.

J'ai aussi déterminé récemment *B. repanda* dans un envoi provenant de Versailles (leg. J. d'AGUILAR).

Bourletiella (Heterosminthurus) bilineata (Bourl.) (fig. 12).

Syn. nov. *Bourl. cornuta* Stach 1956.

Dans sa récente monographie des Sminthuridés polonais, STACH (1956) fait part de sa découverte d'un caractère sexuel secondaire affectant la tête des mâles des espèces du groupe *bilineata*. Toutefois, chez l'espèce *bilineata*, précisément, il n'a pu le décrire faute de matériel.

Comme j'ai dans ma collection un grand nombre de *B. bilineata* (cf. GISIN 1948), je me suis mis en devoir d'étudier les mâles de cette espèce. En ressortant, de la collection dans l'alcool, mon matériel vieux de dix ans, j'ai immédiatement été frappé par l'état de décoloration de tous les spécimens: les bandes longitudinales du grand abdominal sont disparues et il ne reste plus que de faibles taches près des trichobothries de l'abd. V. Or, cette faible pigmentation serait le caractère par lequel se distinguerait une espèce voisine:



FIG. 12. — *Bourletiella bilineata*.
Région frontale de la tête.

cornuta Stach 1956. J'observais ensuite sur la tête de mes *bilineata* mâles exactement les 2 + 2 épais macrochètes, un peu ondulés, caractéristique de *cornuta* Stach, en revanche, je trouvais une douzaine de courtes soies renflées à la base et implantées entre les bases antennaires où STACH ne dessinait pour *cornuta* que des poils fins ordinaires. Rendu attentif sur ce détail par lettre, M. STACH a bien

voulu me confirmer que son dessin n'était pas fidèle en ce qui concerne ces poils en bulbe qu'il retrouve après coup aussi chez *cornuta*.

Il en résulte à mon avis que *cornuta* ne représente que des spécimens de *bilineata* partiellement décolorés par un séjour dans l'alcool. Que les bandes latérales de *bilineata* soient quelquefois mal marquées et se décolorent facilement, je l'avais d'ailleurs déjà signalé dans ma révision des *Bourletiella* suisses de 1946.

Bourletiella nonlinearata Gisin 1946 (fig. 13).

STACH (1956) tient cette espèce pour vraisemblablement identique à *B. linnaniemii* var. *decolorata* Stach, parce qu'il se base,

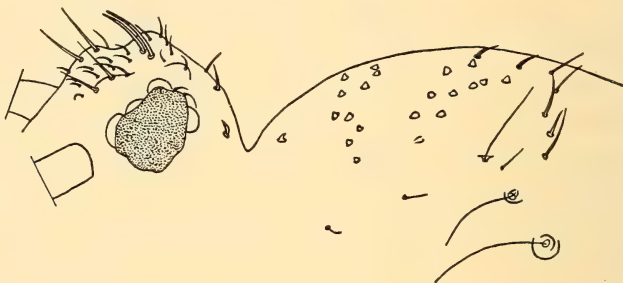


FIG. 13. — *Bourletiella nonlinearata*.
Parties dorsales de la tête et du grand abdominal.

dans ces tables, avant tout sur la coloration. J'expose, dans le chapitre précédent, à propos de *B. bilineata*, à quel point ce caractère est sujet à caution dans ce groupe. J'ai déjà donné, en 1946, des caractères morphologiques distinctifs pour les femelles de *B. nonlinearata* et je les complète aujourd'hui pour les mâles (fig. 13). Chez aucune autre espèce de Collembole, on ne connaît les curieuses productions chitineuses que portent les mâles de *nonlinearata* sur la partie antérieure du dos. Il ne peut y avoir le plus faible doute que *B. nonlinearata* est une bonne espèce.

Sminthurus viridis L. et
Sminthurus nigromaculatus (Tullb.) Reuter.

Dans mes *Etudes écologiques sur les Collemboles épigés* (GISIN 1948, pp. 489-490, 496), j'ai attiré l'attention sur le fait que les

Sminthurus « *viridis* » d'Europe centrale semblent se distinguer biologiquement et morphologiquement de ceux de l'Europe atlantique et de l'Australie. Tandis que ces derniers sont connus comme fléaux du trèfle et de la luzerne, les formes correspondantes de Suisse n'ont jamais accepté cette nourriture dans les élevages et leur tube digestif a toujours été observé rempli de pollen et jamais de parenchyme foliaire. De plus, j'ai été frappé, sur les spécimens suisses, par la constance de deux taches supra-anales noires, placées l'une devant l'autre, alors que celles-ci seraient absentes chez la forme d'Australie (WOMERSLEY 1939, pl. I), d'Angleterre (LUBBOCK 1873, pl. 1) et d'Allemagne du Nord (BÖRNER 1901, *var. cinereo-viridis*), et elles manquaient effectivement sur les quelques exemplaires d'Angleterre et de la Bretagne dont je disposais à l'époque. Ces exemplaires semblaient en outre posséder un filament empodial plus long que les formes suisses (cf. WOMERSLEY, 1939, fig. 74 E).

Depuis, j'ai eu l'occasion d'étudier des collections de *S. viridis*, récoltées comme insectes nuisibles aux trèfles, provenant des endroits suivants :

Milan (Italie), prairies humides, leg. DOMENICHINI (cf. le travail de cet auteur sur les « marcità », 1955).

Gewa (Israël), cultures maraîchères, leg. BYTINSKY-SALZ.

Cyrénaïque (Afrique du Nord) sur luzerne, pommes de terre, artichauts, leg. H. MARTIN.

Tous ces spécimens sont dépourvus de taches supra-anales noires, et le filament apical de l'empodium mesure environ 80-90% de la partie lamellée de cet organe, alors que chez les formes suisses, le filament reste dans les limites de 50-65% de la longueur de la lamelle empodiale.

Quoique je n'aie pas réussi à découvrir d'autres caractères distinctifs, il me semble prudent de ne pas maintenir l'opinion courante, encore récemment défendue par STACH (1956), que les « variations » sus-mentionnées seraient sans intérêt systématique ni écologique. Au contraire, il est presque sûr qu'il faut distinguer une espèce nuisible, sans taches supra-anales (ou éventuellement avec une tache peu marquée), à filament empodial long et une espèce ne faisant pas de dégâts aux cultures, avec deux taches supra-anales et un filament plus court.

Reste la question de la nomenclature. Linné est l'auteur du nom *Podura viridis*. Il décrit l'espèce en détail dans la *Fauna*

Suecica (1746) déjà et ne dit rien de taches supra-anales. Son « *pulex viridis plantarum...*, praesertim in foliis primordialibus *Helxines sativa* » pourrait bien s'appliquer à l'espèce nuisible. Plus tard, le dessin de LUBBOCK (basé sur des *viridis* d'Angleterre) a été considéré comme représentatif de la forme typique de *viridis* (SCHÖTT 1893). Mais la Suède héberge probablement les deux formes, puisque TULLBERG (1872) figure une variété avec deux taches supra-anales typiques (var. *nigro-maculata*). Peu après, REUTER (1876, p. 79) érige *nigro-maculatus* au rang de bonne espèce (« *species mihi propria videtur* »). Il a probablement vu juste.

BIBLIOGRAPHIE

- CASSAGNAU, P. 1955. *Sur un essai de classification des Neanuridae holarctiques et sur quelques espèces de ce groupe*. Rev. franç. Ent. 22: 134-163.
- DOMENICHINI, G. 1955. *Studio ecologico su la marcità lombarda e sua entomofauna*. Boll. Zool. agr. Bachicult. 21: 87-136.
- GISIN, H. 1946. *Révision des espèces suisses du genre Bourletiella s. lat.* Mitt. schweiz. ent. Ges. 20: 249-261.
- 1948. *Etudes écologiques sur les Collemboles épigés*. Mitt. schweiz. ent. Ges. 21: 485-515.
- 1955. *Notes sur divers Collemboles de la Suisse*. Mitt. schweiz. ent. Ges. 28: 141-148.
- 1956. *Nouvelles contributions au démembrement des espèces d'Onychiurus*. Mitt. schweiz. ent. Ges. 29: 329-352.
- REUTER, O. M. 1876. *Catalogus praecursorius Poduridarum Fenniae*. Medd. Soc. Fauna Flora fenn. 1: 78.
- STACH, J. 1956. *The Apterygotan Fauna of Poland in relation to the World-Fauna of this group of Insects. Family Sminthuridae*. Krakow. 279 pp.
- WOMERSLEY, H. 1939. *Primitive Insects of South Australia*. Adelaide. 322 pp.
-

Observations sur les parasites du Carpocapse (*Cydia pomonella* L.) près de Genève¹

par

P. GEIER

Stations fédérales d'essais agricoles

(Avec 19 figures dans le texte)

Les grandes études du parasitisme affectant le Carpocapse, comme celles de ROSENBERG (1934) et de SIMMONDS (1944), furent essentiellement conduites dans l'esprit du « biological control » prévalant à l'époque. On se proposait de déterminer, parmi les antagonistes du ravageur dans un habitat traditionnel — la France dans les deux cas cités — quelles espèces pouvaient le mieux être acclimatées et introduites dans les territoires plus récemment infestés par le Carpocapse.

Bien qu'elle ait connu des succès indiscutables, cette méthode empirique ne saurait être généralisée, de sorte que les conclusions écologiques des auteurs cités présentent actuellement moins d'intérêt que leurs excellentes observations faunistiques et éthologiques.

En effet, on tend à considérer aujourd'hui que l'abondance d'une espèce est conditionnée par une constellation de variables interactives. L'interdépendance qu'on décèle dans l'action de ces variables suggère qu'aucun facteur unique ne peut régir à lui seul, ni dans le temps, ni dans l'espace, les populations d'un ravageur. Il convient d'interpréter les exceptions à cette règle comme des occurrences extraordinaires ou comme les manifestations caractéristiques d'une zone marginale de l'aire de peuplement.

¹ Travail fait entièrement au Musée d'Histoire naturelle de Genève.

On comprend qu'au concept de « lutte biologique » *sensu stricto* se substitue peu à peu celui de « lutte écologique », où l'agent pathogène, parasitaire ou prédateur, cesse de faire figure de frein capable de s'opposer isolément à la pullulation des insectes indésirables, pour s'intégrer à l'ensemble des facteurs dont l'effet combiné peut rendre un milieu défavorable à l'espèce nuisible.

Aucune tentative n'a encore été faite d'apprécier dans cet esprit le rôle du parasitisme au sein du complexe écologique régissant la densité des populations du Carpocapse. La nouvelle définition du problème et l'élaboration des méthodes aptes à le résoudre sont relativement trop récentes pour s'être imposées jusqu'ici dans les domaines particuliers de l'entomologie appliquée.

En outre, pareille entreprise implique l'établissement d'un modèle de la fonction générale liant la population du Carpocapse aux facteurs écologiques¹. Considérant le parasitisme comme l'un des facteurs en jeu, il s'agit de déterminer la nature et la quantité de ses effets sur la population de l'hôte *dans les circonstances changeantes du milieu*. L'information acquise doit permettre de juger :

- si le parasitisme figure parmi les éléments déterminant l'abondance de l'espèce;
- si le taux de parasitisme peut être modifié avantageusement de propos délibéré;
- si la pression du milieu sur le ravageur peut être accrue par une modification artificielle du taux de parasitisme.

On constate que la plupart des connaissances indispensables au jugement objectif de « l'utilité » des antagonistes font encore défaut d'une manière générale : le cas du Carpocapse ne fait pas exception à la règle.

S'il paraît possible de préconiser l'emploi de la *nuisibilité* comme mesure de la population de Carpocapse, les facteurs écologiques dont on discerne aujourd'hui l'influence sur le ravageur sont pour la plupart des complexes, qu'il conviendrait de résoudre en variables élémentaires afin d'en étudier numériquement les effets (GEIER, 1957). Cette remarque s'applique également au parasitisme, que

¹ Le travail de WILLIAMS (1951) marque une première étape dans l'élaboration d'un modèle généralisé de ce genre.

j'incline à considérer comme l'un des composants du facteur général « localité » (*loc. cit.*).

Le présent travail rend compte d'observations préliminaires, de caractère faunistique, pouvant contribuer à une étude ultérieure des parasites du Carpopapse, conçue selon les principes énoncés.

MÉTHODE.

Il s'agissait en 1955, à l'origine de l'étude en cours, de se former au plus vite une idée de l'identité et de l'abondance des parasites de Carpopapse aux alentours de Genève, où rien n'avait été fait méthodiquement dans ce domaine, pas plus d'ailleurs que dans le reste de la Suisse.

Les auteurs précédents ont montré que les parasites les plus communs se développent au détriment des chenilles du Carpopapse, dont ils partagent le cocon; les parasites adultes en émergent vers l'époque normale du vol de l'hôte. Je devais donc m'efforcer de rassembler le plus possible de larves du ravageur parvenues à maturité pour en élever les parasites éventuels.

A cet effet, j'ai posé durant l'été des bandes-pièges en carton ondulé ceinturant le tronc et les charpentières d'un assez grand nombre d'arbres fruitiers d'essences diverses (pommiers, poiriers, noyers), répartis dans un tiers environ du canton. Les arbres destinés à porter les bandes furent choisis de manière à garantir l'absence de tout traitement chimique tant dans le passé qu'en cours d'étude. Comme il m'importait alors davantage d'obtenir un matériel d'origines très diverses que des captures homogènes abondantes, la variété ni l'importance de la récolte n'ont généralement déterminé le choix des arbres retenus. Je me suis peu préoccupé de l'ordre chronologique des premiers piégeages: ils n'ont pu débiter qu'en fin juillet, pour s'achever au mois d'octobre. Les bandes, qui restaient en place un mois dans la règle, n'ont pratiquement fourni que des larves hibernantes.

Précisons que j'ai procédé différemment en 1956, année durant laquelle les captures furent effectuées selon un programme méthodique dicté par les enseignements de la saison précédente.

On sait que les ceintures de carton sont d'autant plus prenantes que l'arbre offre moins d'abris naturels aux larves de Carpopapse.

Pour comparer l'infestation respective de deux sujets d'après le seul nombre des larves capturées sur chacun, il faudrait lisser les écorces avec le plus grand soin préalablement au piégeage. Semblable opération m'est impossible: le total des captures d'une saison ne permet donc ici qu'une estimation très approximative des infestations réelles par le *Carpocapse*.

Toutefois, selon les observations de GARLICK (1948) sur les pérégrinations des larves matures en quête d'un emplacement où tisser leur cocon, on peut admettre que tous les individus d'un même arbre ont une chance comparable d'être pris dans les bandes, de sorte que les échantillons tirés par celles-ci sont directement représentatifs de leurs populations respectives, non pas en nombre, mais par la nature et l'abondance relative des parasites.

Lors du dépouillement des bandes, les larves du *Carpocapse* observées furent retirées de leur premier cocon et contraintes de se loger dans les alvéoles de carton ondulé garnissant une boîte capable de contenir tous les individus capturés pendant une même période dans une même station.

Chacune de ces boîtes devait constituer un élevage distinct. Les élevages furent conduits dans des conditions absolument uniformes, à l'air libre sous un auvent les abritant entièrement du soleil. Les larves en élevage subirent de copieux arrosages mensuels: la mortalité imputable aux circonstances de l'élevage (somme des individus morts prématurément pour un motif inexpliqué et des adultes non émergés parce que bloqués dans l'alvéole par un autre cocon) n'atteint pas 7% de la population originale.

Pendant la période d'émergence, les adultes furent retirés des cages et examinés quotidiennement. En fin de saison, toutes les dépouilles et les cadavres demeurés dans les boîtes firent l'objet d'un contrôle attentif.

Enfin, j'eus l'occasion en 1955 de voir plusieurs centaines d'œufs de *Carpocapse* dans mes stations d'étude et de rechercher les parasites qui peuvent s'y développer.

OBSERVATIONS SYSTÉMATIQUES ET ÉTHOLOGIQUES.

L'ensemble des observations effectuées en 1955 permet d'identifier la présence des parasites suivants dans les stations genevoises:

Parasites des larves:

Ephialtes caudatus Ratz., Hym. Ichn. *Pimplinae*; ectoparasite.

Trichomma enecator Rossi, Hym. Ichn. *Ophioninae*; endoparasite.

Pristomerus vulnerator Grav., Hym. Ichn. *Ophioninae*; endoparasite.

Ascogaster quadridentatus Wesm., Hym. Brac. *Cheloninae*; endoparasite.

Microdus rufipes Nees, Hym. Brac. *Agathidinae*; endoparasite.

Elodia tragica Meig., Dipt. Tachin. *Goniinae*; endoparasite.

Hyperparasites:

Perilampus tristis Mayr, Hym. Chalcid. *Perilampinae*.

Dibrachys cavus Walk., Hym. Chalcid. *Pteromalinae*.

Elevages 1955-56: émergence des adultes.

La figure 1 montre les périodes durant lesquelles ont émergé les parasites adultes ainsi que les papillons du Carpodapse obtenus dans les élevages du matériel capturé en 1955.

En ce qui concerne l'ordre d'apparition des parasites par rapport au vol de l'hôte, mes constatations coïncident avec celles de ROSENBERG (1954) et de SIMMONDS (1944).

Quant au Carpodapse, j'ai dénombré quelques 600 papillons provenant principalement du pommier, mais aussi, pour un tiers, du poirier et du noyer. Malgré ces origines différentes et la diversité des périodes de captures, je n'enregistre entre les séries d'élevage aucun écart significatif distinguant un groupe quelconque dont le vol serait hâté ou retardé par rapport à l'ensemble des individus hibernants. Le fait apparaît nettement à l'examen de l'histogramme des fréquences d'émergence quotidiennes (fig. 1), qui décrit une bonne courbe de distribution normale.

Pourtant, ARMSTRONG (1945) affirme que les Carpodapses hibernés sur poirier volent plus tard que ceux du pommier; BASINGER & SMITH (1946) font la même constatation à propos du noyer; GARLICK (1948) distingue dans ses propres élevages de chenilles du pommier des différences dans l'époque d'émergence des adultes selon la date à laquelle les larves ont atteint la maturité. Est-ce à dire que mes observations contredisent celles des auteurs précédents? Je ne le crois pas, pour les raisons suivantes: notamment, outre que l'importance de mes élevages est relativement limitée, mes captures

n'ont débuté qu'en fin juillet et n'embrassent en conséquence qu'une fraction de la population annuelle du Carpopapse; de plus, la période générale des émergences est nettement retardée dans les élevages genevois par rapport aux dates de début de vol et de vol

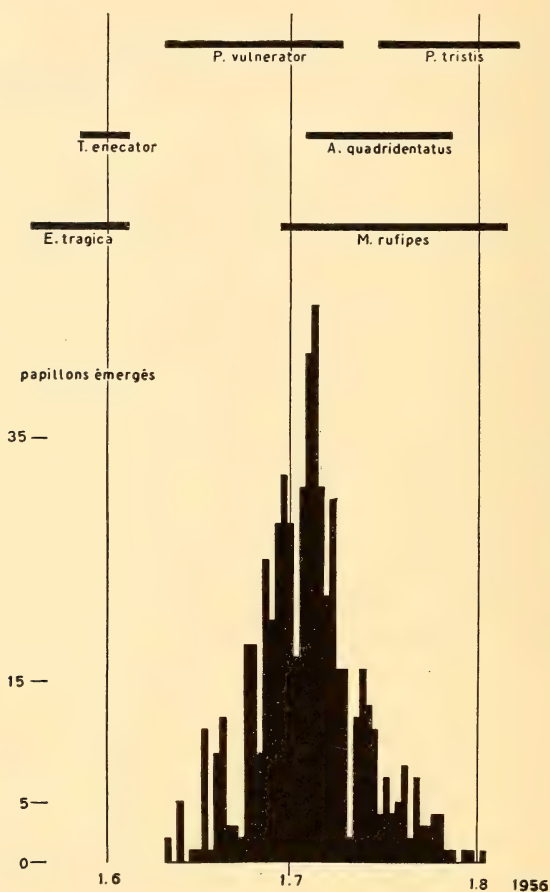


FIG. 1.

Elevages 1955-56: histogramme de fréquence des papillons émergés quotidiennement; périodes d'émergence des parasites.

maximum observées par les auteurs: il n'est pas exclu que le phénomène atténue certains écarts susceptibles de s'affirmer en d'autres circonstances; enfin, je présume que l'époque du vol des

adultes hibernés peut être influencée, au sein d'une même espèce végétale, par la variété de l'arbre ayant hébergé les larves immatures, de sorte que les constatations des chercheurs n'ont pas forcée-



FIG. 2.

Ephialtes caudatus Ratz.♀; $\times 3,5$.

ment été faites dans des conditions équivalentes. Quoi qu'il en soit, nos connaissances encore fragmentaires de la question interdisent pour le moment toute conclusion générale.

Toujours à propos du Carpopapse, je note que le nombre d'adultes obtenus de chaque sexe est compatible avec un rapport mâles/femelles de valeur 1, normale pour l'espèce, c'est-à-dire que les facteurs de

mortalité auxquels les populations ont été exposées n'ont pas affecté un sexe plus gravement que l'autre de manière systématique. Enfin, le vol des deux sexes est simultané.

Ephialtes caudatus Ratz., Hym. Ichneumonide (fig. 2).

L'espèce est caractérisée par :

l'aréole deltoïde, l'abdomen non pétiolé, la tarière de la longueur du corps (*Pimplinae*);

la tête transverse et les tergites bosselés (*Pimplini*; in SCHMIEDENKNECHT, 1906-8);

le sillon des mésopleures, formant deux arcs distincts accolés à la hauteur de la fossette, les sillons parapsidaux étroits, le propodeum portant deux carènes longitudinales, le clypeus dont la marge antérieure est fortement échancrée dans sa partie médiane (*Ephialtes*; in PERKINS, 1941).

Dans l'attente d'une révision complète du genre *Ephialtes*, il semble impossible d'établir une diagnose formelle de l'espèce *caudatus* Ratz. Selon PERKINS (1939), deux espèces seraient connues comme parasites de *C. pomonella*, soit *E. caudatus* Ratz. et *E. crassiseta* Thoms. L'auteur anglais (*op. cit.*) propose des critères d'identification qui ne paraissent pas, cependant, permettre une distinction indiscutable des deux groupes: si notre matériel est conforme à *caudatus* par son aspect plus élancé (fémurs postérieurs, notamment), la forme de l'extrémité apicale de sa tarière est en revanche celle que PERKINS signale chez *crassiseta*. *E. caudatus* Ratz. est l'espèce la plus communément observée comme antagoniste du Carpocapse et la plus anciennement décrite, aussi semble-t-il indiqué, dans le doute actuel, de lui attribuer tous les *Ephialtes* parasites de cet hôte jusqu'à la démonstration certaine de l'existence sur le même hôte d'une espèce voisine distincte.

Il paraît également vain de chercher à déterminer tous les hôtes de l'espèce d'après la littérature: une étude expérimentale serait ici indispensable. Comme les *Ephialtes* sont des ectoparasites s'attaquant aux insectes les plus divers protégés par un cocon dans un abri naturel, on peut néanmoins présumer que *E. caudatus* n'est pas exclusivement inféodé à *C. pomonella*, mais qu'il peut également se développer au détriment d'autres Microlépidoptères dont les larves sont confinées dans un espace clos.

Quittant leurs quartiers d'hiver avant le vol du Carpopapse, les adultes de *E. caudatus* ont une longévité moyenne de plus d'un mois pour les femelles (ROSENBERG, 1934). Il y a lieu de penser, selon



FIG. 3.

Trichomma enecator Rossi.

♀; $\times 5$.

l'auteur cité et selon NAPHTALI (1940), que les parasites printaniers peuvent encore placer leurs œufs dans les cocons dont les Carpopapses hibernants n'ont pas encore émergé à cette époque.

Alors que la première génération de l'été semble évoluer intégralement l'année même, sa descendance, qui parasite les chenilles matures des générations estivales du Carpopapse, montre une tendance à l'hibernation qui augmente à mesure que la saison avance (NAPHTALI, 1940). Mes observations m'inclinent à penser que

E. caudatus effectue chez nous dans la règle une génération estivale et une génération destinée à hiberner; il n'est cependant pas impossible qu'une seconde génération estivale partielle se développe au détriment des Carpocapses bivoltins.

Les adultes de *E. caudatus*, tant mâles que femelles, exercent, en plus du parasitisme larvaire, une action prédatrice sur les hôtes, dont ils consomment l'hémolymphe; ils peuvent détruire de cette manière un nombre considérable de proies, auxquelles s'ajoutent les chenilles que les femelles se contentent de paralyser à coups de tarière, sans oviposition (NAPHTALI, 1940).

On comprend que ces habitudes, dont les conséquences écologiques sont analysées par FLANDERS (1953), jointes au superparasitisme et à l'hyperparasitisme coutumiers de l'espèce, ainsi qu'à la faculté de pondre en deux temps dans la même population hibernante de l'hôte, rendent extrêmement difficile l'évaluation de l'effet limitatif de *E. caudatus* sur le Carpocapse.

Je n'ai constaté jusqu'ici la présence de l'Ichneumon qu'à trois endroits dans les dix stations genevoises étudiées. Il est probablement plus fréquent; en effet, on tend à sous-estimer son abondance parce que ses larves sont généralement détruites à l'ouverture des cocons du Carpocapse, cocons que les chenilles paralysées ne parviennent pas à reconstituer. *E. caudatus* devrait être élevé selon une technique différente de celle qui suffit pour les endoparasites: il est possible d'obtenir l'éclosion des adultes hibernants dès l'automne par forçage en laboratoire.

Trichomma enecator Rossi, Hym. Ichneumonide (fig. 3).

Cette espèce semble avoir été signalée pour la première fois comme parasite du Carpocapse par SCIARRA (1915). Sa position systématique est définie par:

l'abdomen pétiolé, fortement déprimé latéralement, le premier segment rectiligne (*Ophioninae*);

la cellule radiale allongée, le stigma étroit, l'absence d'aréole, l'insertion de la seconde nervure récurrente à l'unique nervure aréolaire, la sculpture grossière du propodeum, les saillants du propodeum recouvrant les hanches postérieures (fig. 4a), l'épaississement des tarses postérieurs (*Anomalomini*; in SCHMIEDEKNECHT, 1908-11; et MEYER, 1931);

les yeux nettement ciliés (*Trichomma*);
l'absence d'épine frontale, la marge antérieure du clypeus portant une dent médiane (fig. 4b), le scutum plat, faiblement déprimé longitudinalement, le nervellus rectiligne (*T. enecator* Rossi; in MEYER, 1931).

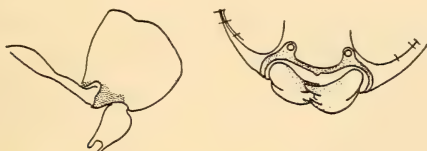


FIG. 4.

T. enecator: a) saillants du propodeum (partie ombrée); b) clypeus.

Selon ROSENBERG (1934), notamment, *T. enecator* serait fort polyphage, attaquant les chenilles de nombreux Lépidoptères, parmi lesquels prédominent les Tordeuses.

Les adultes printaniers de cet endoparasite émergent, peu avant le début du vol de leur hôte, des chrysalides de Carpopapse où l'on observe les restes de leur propre coton (fig. 5). Leur copulation



FIG. 5.

Chrysalides de Carpopapses après émergence de *T. enecator*; $\times 6$.

retardée et leur longévité d'environ un mois (ROSENBERG, 1934) suggèrent qu'ils peuvent pondre normalement dans les jeunes larves estivales de *C. pomonella*, sans nécessairement devoir se rabattre sur un hôte intermédiaire. La faiblesse de leur tarière interdit selon toute vraisemblance l'attaque des chenilles et des chrysalides

en cocons. Les prélèvements de larves immatures de Carpopapse opérées par SIMMONDS (1940) dans les fruits montrent sans doute que l'oviposition de *T. enecator* s'effectue très tôt, soit avant la pénétration de la chenille dans un fruit, soit dans la galerie superficielle de la jeune larve.



FIG. 6.
Pristomerus vulnerator Grav.
♀; × 6.



FIG. 7.
Cocon de *P. vulnerator* in situ; × 6.

A l'instar des autres endoparasites du Carpopapse, *T. enecator* adopte très vraisemblablement le rythme évolutif de son hôte, univoltin pour la grande majorité des larves, bivoltin pour une partie des individus les plus précoces.

Je n'ai observé la présence de l'espèce que dans deux stations genevoises sur dix; elle s'avère plus abondante sur Carpopapses du noyer que sur matériel du pommier.

Pristomerus vulnerator Grav., Hym. Ichneumonide (fig. 6).

Cette espèce est définie en systématique par:

l'abdomen pétiolé, fortement déprimé latéralement, le premier segment rectiligne (*Ophioninae*);

le stigma et la cellule radiale courts et larges, les deux abscisses de la nervure radiale formant un angle marqué, les pattes postérieures plus longues et plus épaisses que les pattes précédentes, le fémur postérieur armé d'une forte dent (*Pristomerini*);

l'absence d'aréole, le nervellus brisé, les quatre fémurs antérieurs inermes, les fémurs postérieurs renflés (*Pristomerus*);

le flagelle aminci à la base, le thorax noir, le mésonotum mat, la dent du fémur postérieur insérée vers le milieu de l'article, la tarière de la longueur de l'abdomen (*P. vulnerator* Grav.; in SCHMIEDEKNECHT, 1908-11).

Comme le précédent, cet Ichneumon serait capable de se développer au détriment d'une série de chenilles de Microlépidoptères, notamment.

Les adultes printaniers quittent leur cocon gris-brun caractéristique (fig. 7), tissé à l'intérieur de celui de leur hôte, à une époque coïncidant avec le début du vol des Carpocapses. Compte tenu de leur longévité d'un mois, on conçoit que les femelles n'éprouvent pas de difficulté à trouver de jeunes chenilles en suffisance. ROSENBERG (1954) observe que les pondeuses insèrent leur tarière dans les galeries récentes, cherchant à atteindre et à infester les larves de Carpocapse peu après leur entrée dans le fruit; elles ignorent les larves de l'hôte qui se trouvent à découvert.

Le rythme évolutif de *P. vulnerator* est identique à celui du Carpocapse.

L'espèce semble plus fréquente que les deux précédentes: elle apparaît dans six stations genevoises sur dix.

Ascogaster quadridentatus Wesm., Hym. Braconide (fig. 8).

SCIARRA (1915) cite le premier *A. quadridentatus* ex *C. pomonella*. L'espèce se définit par:

la soudure des segments abdominaux un à trois, formant une carapace bombée, la présence de deux nervures transverso-cubitales (*Cheloninae*);

la présence de la première abscisse cubitale, l'effacement des sutures abdominales (*Ascogaster*; MARSHALL in ANDRÉ, 1888);

la marge antérieure du clypeus portant une dent médiane, la tête noire, arrondie en arrière des yeux, le mésonotum grossièrement rugueux, le propodeum armé de quatre dents (fig. 9) (*A. quadridentatus* Wesm.; in SZEPLIGETI, 1908).



Fig. 8.

Ascogaster quadridentatus Wesm.; $\times 12$.

A. quadridentatus est signalé comme parasite de nombreux Microlépidoptères, en particulier de Tordeuses. BOVEY (1937) l'élève en Suisse ex *Grapholita funebrana* Tr. C'est, de tous les parasites du Carpocapse, le plus répandu et le plus étudié, en partie sous le nom de *A. carpocapsae* Vier., synonyme reconnu par FERRIÈRE in ROSENBERG (1934).

Après les travaux de Cox (1932), *A. quadridentatus* a fait l'objet de beaucoup de tentatives d'acclimatation, dont plusieurs furent couronnées de succès (NEL, 1942); on peut se demander, en revanche, si la pratique qui consiste à libérer chaque années dans la nature des adultes multipliés en insectarium s'est avérée vraiment

efficace: le doute est permis en l'absence d'investigations méthodiques.

Selon Cox (1932), la femelle adulte pond dans l'œuf du Carpo-capse et la larve parasite pénètre dans l'hôte peu avant l'éclosion de celui-ci. Le comportement de la chenille n'est pas affecté jusqu'à la formation du cocon, après quoi le Braconide émerge du corps de sa victime pour effectuer en ectoparasite son troisième stade larvaire et tisser son propre cocon, d'un blanc métallique, dans



FIG. 9.

A. quadridentatus: thorax et propodeum.

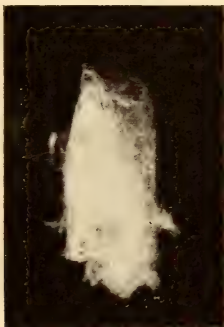


FIG. 10.

Cocon de *A. quadridentatus*; $\times 6$.

celui du Carpo-capse (fig. 10). L'auteur américain et ses successeurs notent la taille réduite et l'affaiblissement des chenilles du Carpo-capse attaquées par *A. quadridentatus*: comme nous le verrons, c'est probablement la présence de tels individus dans les collections observées qui incite WIESMANN (1937), puis BENDER (1953), à penser qu'une certaine proportion de Carpo-capses hibernent au quatrième stade larvaire.

Au cours de son existence d'un mois environ, la femelle adulte peut pondre plusieurs centaines d'œufs. ROSENBERG (1934), qui rapporte cette information, donne en outre de précieux renseignements sur le comportement de la pondeuse à propos du super-parasitisme.

Le rythme évolutif de *A. quadridentatus* est dicté par celui de son hôte, dans le cas présent tout au moins.

En dépit de la mortalité élevée frappant en élevage les chenilles parasitées par *A. quadridentatus*, imputable à l'affaiblissement et à la paralysie des larves, dont beaucoup sont incapables de tisser un second cocon, cette espèce est l'un des antagoniste du Carpopapse les mieux représentés dans mes élevages: elle apparaît dans sept stations genevoises sur dix, sur pommier et sur poirier.

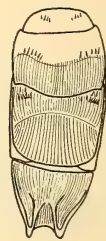


FIG. 12.

M. ufipes: segments abdominaux
1 à 4, face dorsale.

FIG. 11.

Microdus rufipes Nees.
♀; × 6.

Microdus rufipes Nees, Hym. Braconide (fig. 11).

Cette espèce est rarement citée ex *C. pomonella*. On la connaît de Yougoslavie, sous l'appellation générique de *Bassus* (BRAGINA, 1926) et de Bulgarie, où elle fut obtenue en 1932 par TCHERBADJEV, selon un renseignement inédit de FERRIÈRE qui l'a identifiée.

M. rufipes est caractérisé par:

l'abdomen aux sutures bien marquées, dont celle des segments deux à trois n'est pas articulée, la deuxième cellule cubitale aréolée, la cellule radiale étroite, n'atteignant pas l'extrémité de l'aile (*Agathidinae*);

la face en triangle équilatère, la présence de trois cellules cubitales, dont la première est confondue avec la première cellule discoidale (*Microdus*);

les segments abdominaux deux et trois striolés, du moins en partie (fig. 12), les hanches postérieures rougeâtres, les sillons profonds du mésonotum, la fossette crénelée des mésopleures (*M. rufipes* Nees; MARSHALL in ANDRÉ, 1888).

Vu l'époque d'émurgence des adultes hibernés et l'anatomie des femelles, on peut présumer que la ponte s'opère dans les jeunes chenilles du Carpopapse. Le cocon de l'espèce, qu'on trouve facilement dans celui de l'hôte consommé, est semblable au cocon de *A. quadridentatus* (fig. 10).



FIG. 13.

Elodia tragica Meig.; $\times 6$.



FIG. 14.

Puparia de *E. tragica*; $\times 6$.

Le rythme évolutif du Braconide semble régi par celui du Carpopapse: quelques adultes peuvent apparaître en été avec les papillons bivoltins de l'hôte.

M. rufipes n'est pas fréquent dans mes élevages; je l'observe dans deux seulement des dix stations genevoises, sur matériel provenant du pommier et du noyer.

Elodia tragica Meig., Dipt. Tachinide (fig. 13).

Figurant aussi dans la littérature sous l'appellation erronée de *Arrhinomya*, cette espèce fut signalée par BAER (1921) comme parasite du Carpopapse: elle fait l'objet d'une étude systématique de L.-P. MESNIL in LINDNER (1952). *E. tragica* apparaît dans presque toutes les listes d'antagonistes du Carpopapse établies pour l'Europe.

Les individus ayant hiberné quittent avant le début du vol de l'hôte le puparium typique qu'ils forment dans la dépouille larvaire de la chenille attaquée, à l'intérieur de son cocon (fig. 14). Parvenus à maturité, les ovaires de la femelle contiennent des centaines d'œufs très petits, dont on ignore les conditions d'éclosion. Selon L.-P. MESNIL (*in litt.*), il ne s'agit probablement pas d'œufs microtypes, caractéristiques de certains Tachinides, qui n'éclosent qu'après avoir été avalés par l'hôte. Les travaux de ROSENBERG (1934) font douter, d'autre part, que l'espèce soit larvipare, puisque cet auteur obtient en élevage des œufs déposés sur fruits, notamment, dont les larves ne parviennent pas à sortir.



FIG. 15.
Perilampus tristis Mayr; $\times 10$.

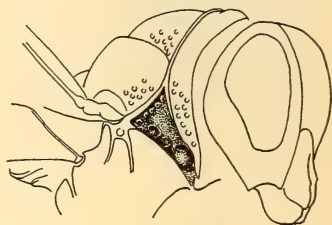


FIG. 16.
P. tristis: prépectus.

Le rythme évolutif de *E. tragica* semble régi par celui de la chenille attaquée: on observe l'apparition d'adultes dans les élevages estivaux au moment du vol des papillons bivoltins.

Sans être rare, le Tachinide n'est cependant pas très fréquent dans mes élevages: il apparaît dans cinq stations genevoises sur dix, de chenilles du pommier, du poirier et surtout du noyer.

Perilampus tristis Mayr, Hym. Chalcidien (fig. 15).

Cette espèce est caractérisée par:

le thorax bombé, très développé, le pronotum court, le scutellum recouvrant toute la partie postérieure du thorax, l'abdomen sub-triangulaire, les deuxième et troisième sternites soudés en une plaque recouvrant presque tout l'abdomen (*Perilampidae*);

le clypeus grand, l'aire supra-clypéaire, les sillons parapsidaux convergeant en arrière, la nervure marginale pas plus longue que la moitié de la cellule costale, l'abdomen non pétiolé (*Perilampus*; d'après FERRIÈRE, inédit);

le corps noir, le prépectus presque fusionné avec le pronotum, ponctué vers le bas (fig. 16) (*P. tristis* Mayr; in STEFFAN, 1952).



FIG. 17.

Cocon de *P. vulnerator* hyperparasité par *P. tristis* (capsule céphalique de l'hôte détachée); cocon de *P. vulnerator* normal (avec la capsule céphalique de l'hôte); $\times 10$.

P. tristis est hyperparasite de certains antagonistes primaires du Carpocapse. On reconnaît son activité après l'éclosion au fait que les cocons des Hyménoptères attaqués sont ouverts irrégulièrement et qu'ils contiennent, en plus des dépouilles larvaires de l'hôte original, celles du Chalcidien (fig. 17).

J'obtiens *P. tristis* ex *P. vulnerator*, moins fréquemment ex *A. quadridentatus* et une fois ex *M. rufipes*, vraisemblablement, dans six stations genevoises sur dix. L'éthologie de l'espèce est ignorée.

Dibrachys cavus Walk., Hym. Chalcidien.

Ce petit Pteromalide, extraordinairement polyphage, apparaît sporadiquement dans les élevages de Carpocapse, soit comme parasite primaire, soit comme superparasite soit encore comme hyperparasite. Il s'en prend aux individus en cocons, attaquant indifféremment les chenilles et les chrysalides (SCIARRA, 1915; ROSENBERG, 1934). Comme pour *E. caudatus*, sa fréquence peut être sous-estimée dans les populations de larves retirées d'un premier cocon.

Trichogramma sp., Hym. Chalcidien.

Malgré des recherches attentives, je n'ai pas observé directement l'insecte dans mes stations. Accomplissant tout son développement dans l'œuf de l'hôte, qui prend, dès l'infestation, une teinte sombre uniforme, le *Trichogramme* émerge en forant un trou rond caractéristique (MARCHAL, 1936). J'ai trouvé à quelques reprises des œufs noirs, semblant parasités, sans parvenir à en obtenir l'éclosion, dans des conditions d'élevage extrêmement rudimentaires, il est vrai. A une seule occasion, un œuf de Carpocapse sur feuille de pommier m'a paru porter les traces nettes d'une infestation par *Trichogramma*.

S'il existe bien à Genève un *Trichogramme* capable d'attaquer les œufs du Carpocapse (ce qui n'est pas démontré !), ce Chalcidien est fort discret et vraisemblablement très peu fréquent. On a d'ailleurs l'impression, au vu de la littérature, que les parasites des œufs de *C. pomonella* sont plutôt actifs dans la partie méridionale de l'habitat du ravageur: notre pays ne constituerait donc, au mieux, qu'une zone marginale dans l'aire de peuplement du *Trichogramme*.

DIMENSIONS RELATIVES DES LARVES DE CARPOCAPSE SAINES ET PARASITÉES.

Lors de l'examen final des résidus demeurés dans les boîtes d'élevage en automne 1956, j'ai retiré les capsules céphaliques des dépouilles larvaires de Carpocapse trouvées dans les cocons, en les groupant par catégories, selon qu'il s'agissait d'individus dont un papillon était issu normalement ou de chenilles parasitées, identifiables aux dépouilles de l'antagoniste.

Sachant que les dimensions de la capsule céphalique sont proportionnelles à la taille de la larve et que la hauteur du front est elle-même proportionnelle à la grandeur de la capsule céphalique, j'ai disséqué et préparé plusieurs séries de fronts larvaires en les collant à plat, face en haut, sur un porte-objet, de manière à les mesurer avec une rigueur suffisante. La figure 18 illustre la mesure adoptée.

Ces mensurations ont porté sur le matériel de cinq stations seulement sur dix, obtenu dans des conditions comparables en 1955; elles s'étendent, dans les élevages correspondants, à toutes les larves parasitées, à toutes les larves mortes prématurément sans cocon ou dans un cocon rudimentaire, ainsi qu'à un échantillon de cent larves normales choisi au hasard dans l'ensemble.

Se reportant au graphique 1 de la figure 19, on constate que les fréquences relatives cumulées pour les hauteurs de front des larves saines se répartissent assez bien le long d'une même droite. Cela signifie, dans le cas particulier, que les chenilles matures non parasitées constituent une population homogène quant à la taille, dans

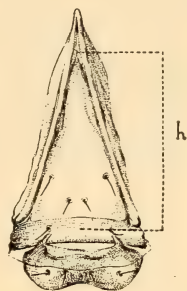


FIG. 18.
Mesure
de la hauteur du
front larvaire.

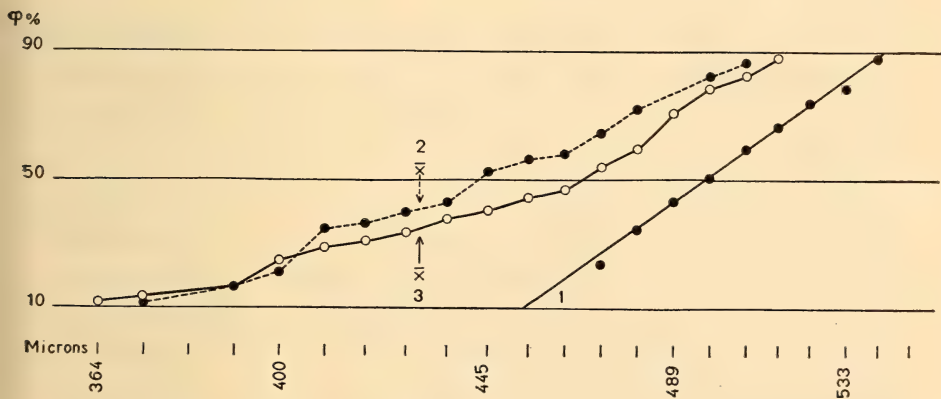


FIG. 19.

Hauteur frontale des capsules céphaliques de chenilles matures:
fréquences relatives cumulées (distribution normale standardisée).

1: chenilles saines; 2: chenilles parasitées, au total;

3: chenilles mortes prématurément sans avoir tissé un second cocon.

laquelle les individus sont distribués normalement. Je dois donc admettre que tous les papillons apparus dans mes élevages sont issus de larves ayant tissé leur cocon au cinquième stade, quelle que soit l'époque à laquelle elles ont atteint la maturité.

En revanche, les endoparasites affectent diversement la taille des chenilles attaquées: selon leur nature, ils peuvent la réduire ou en accroître la variabilité (tableau 1). C'est ainsi que la taille moyenne des larves matures infestées par *A. quadridentatus* est très significativement inférieure à celle des larves matures saines; la taille moyenne des larves matures infestées par *P. vulnerator* est significativement inférieure à celle des chenilles saines, d'une part,

	Moyenne	Limites fiduciaires de la moyenne pour P = 95 %
Larves non parasitées	500,51	± 6,22
Larves mortes prématurément, au total	429,39	± 20,89
Larves parasitées, au total	430,28	± 15,56
Larves parasitées par <i>P. vulnerator</i> .	439,17	± 13,34
Larves parasitées par <i>A. quadridentatus</i>	384,05	± 19,12

TABLEAU 1.

Hauteur du front des larves de Carpocapse matures, en microns.

et significativement supérieure à celle des chenilles parasitées par *A. quadridentatus*, d'autre part. Les autres parasites considérés, soit *E. tragica* et *T. enecator*, ne modifient pas, dans le cas présent, la taille de leurs victimes matures d'une manière significative.

On peut penser que ces différences ne sont pas sans rapport avec le rythme spécifique du développement larvaire de chaque parasite. On note, en plus de la réduction de taille, une variabilité de la hauteur du front significativement plus élevée chez les larves parasitées que dans la population saine. Peut-être s'agit-il là d'une conséquence habituelle du parasitisme, voire même de l'hyperparasitisme occasionnel par *P. tristis*.

Je juge peu probable que les chenilles attaquées par *A. quadridentatus* aient atteint la maturité au quatrième plutôt qu'au cinquième stade larvaire, et cela pour les raisons suivantes: sachant que le Carpocapse connaît cinq états larvaires et que la hauteur

TABLEAU 2.
Résultats numériques de l'élevage de larves de Carpopapse capturées dans cinq stations genevoises en 1955.

Station	Captures du... au...	Essence fruitière	Chenilles en élevage	Papillons	Chenilles biennales	Déchet d'élevage ¹	Chenilles présumées parasitées ²	<i>E. caudatus</i> (L.)	<i>T. enecator</i>				<i>P. vulne- rator</i>				<i>A. quadri- dentatus</i>				<i>M. rufipes</i>				<i>E. tragica</i>				<i>P. tristis</i>				<i>D. carus</i>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
									émerges	avortés	hyperparasités	Total	émerges	avortés	hyperparasités	Total	émerges	avortés	hyperparasités	Total	émerges	avortés	hyperparasités	Total	émerges	avortés	hyperparasités	Total	ex <i>P. vulnerator</i>	ex <i>A. quadridentatus</i>	ex <i>N. rufipes</i>	Total	ex ?	ex <i>E. tragica</i>	Total																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
Vésenaz . . .	19.7-10.9	pom.	135	105	—	1	11	—	—	—	—	5	1	—	6	10	—	2	12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

¹ Chenilles mortes prématurément en élevage, par accident ou pour cause inconnue.
² Chenilles mortes prématurément en élevage, sans cocon ou dans un cocon rudimentaire.

moyenne du front des chenilles néonates se trouve vraisemblablement comprise entre les limites de 140 et de 154 microns, tandis que celle des larves matures saines s'inscrit, dans le cas présent, entre les limites de 494 et de 507 microns, je puis estimer à 330 microns environs de moyenne la hauteur frontale normale du quatrième stade larvaire, en application de la loi de DYAR (1890, in WIGGLESWORTH, 1939). En accordant au quatrième stade une variance égale à celle des larves parasitées par *A. quadritentatus* — ce qui est sûrement excessif —, les deux moyennes n'en diffèrent pas moins significativement. Comme les chenilles infestées par *A. quadridentatus* sont donc plus grandes que la normale du quatrième stade et plus petites que les chenilles matures saines, il est bien raisonnable de les considérer comme des larves du cinquième stade atrophiées par le parasite. La même remarque s'applique *a fortiori* aux chenilles victimes de *P. vulnerator*, dont l'atrophie est moins marquée.

Si l'on considère comme un ensemble unique toutes les larves de Carpocapse attaquées par un endoparasite dans les cinq stations étudiées ici, on obtient, pour la hauteur du front, une moyenne et une variance qui diffèrent très significativement de celles de la population saine. Ces deux paramètres sont en revanche si voisins de ceux de l'ensemble des larves mortes prématurément sans cocon ou dans un cocon rudimentaire que toutes les chenilles de cette dernière catégorie peuvent fort bien avoir été parasitées et avoir succombé en élevage de ce fait.

Le tracé très semblable des courbes 2 et 3 de la figure 18 milite en faveur de cette hypothèse et laisse même penser que la représentation proportionnelle des espèces n'est pas très différente dans l'un et l'autre cas; il montre clairement qu'il s'agit, au contraire de la droite 1 (fig. 19), d'ensembles hétérogènes de grande variance, groupant des individus de taille plutôt réduite par rapport à la normale.

Cette thèse est encore appuyée par ROSENBERG (1934), qui perd 42% des larves dans un élevage de chenilles presque toutes parasitées, contre 8% seulement dans un élevage de chenilles saines.

En conséquence, il paraît juste de compter parmi les individus parasités les larves sans cocon ou dans un cocon rudimentaire mortes prématurément dans les élevages.

TAUX DE PARASITISME.

Les résultats numériques des élevages de larves capturées dans cinq des dix stations genevoises étudiées en 1955 figurent aux tableaux 2 et 3. J'ai renoncé à donner les observations correspondantes faites dans les élevages provenant des cinq autres stations, où les périodes de capture ne sont pas continues.

Il apparaît, à l'examen du tableau, que le taux du parasitisme affectant les chenilles univoltines prises sur les pommiers est sensiblement égal, en 1955, dans les quatre premières stations: l'épreuve du test chi-carré (LINDER, 1951) ne révèle en effet aucun écart

Stations	Vésenaz	Vandœuvres 1	Châtelaine	Florissant	Vandœuvres 2
Epoque des captures	19.7-10.10	21.7-15.9	16.7-1.10	26.7-10.10	21.7-15.9
Papillons	78	80	75	75	57
Déchet d'élevage	2	4	7	4	4
Larves présumées parasitées . . .	8	3	9	11	9
Parasites primaires observés .	12	13	9	10	30
Chenilles parasitées au total .	20	16	18	21	39

TABLEAU 3.

Pourcentage des individus des différentes catégories observées dans les élevages de larves de Carpopapse capturées dans cinq stations genevoises en 1955.

significatif sous ce rapport entre les vergers, bien que la structure de la population parasitaire diffère dans chaque cas en espèces et en nombres. Les résultats des autres élevages confirment la variabilité qualitative de ces populations. S'il est prématuré de tirer des enseignements écologiques du travail fait jusqu'ici, on peut toutefois supposer de fortes interactions biocénétiques entre parasites: la justification de cette hypothèse aboutirait à montrer que l'efficacité intrinsèque des espèces n'est pas additive, c'est-à-dire que l'abondance d'un parasite donné ne peut s'accroître qu'aux dépens d'une autre espèce parasite, dans un milieu déterminé.

La proportion des chenilles parasitées est significativement plus forte dans le matériel prélevé sur noyers (Vandœuvres 2) que dans les élevages de larves du pommier. Cette différence est d'autant plus frappante que les stations Vandœuvres 1 et 2 sont immédiatement voisines. J'ignore si cette différence est constante: la question devrait être étudiée car il ne paraît pas exclu que le noyer constitue un réservoir de parasites dont bénéficient les vergers voisins: je note à ce propos que *T. enecator* et *M. rufipes* (matériel 1956) n'apparaissent sur pommier qu'à Vandœuvres. Alors même que le taux du parasitisme ne pourrait être élevé par des apports artificiels, la diversification des espèces dans un habitat donné présente un intérêt évident.

Il ne serait pas judicieux de chercher à tirer dès maintenant une conclusion pratique des observations dont je rends compte. L'étude doit donc se poursuivre, en visant particulièrement à établir, aussi tôt que possible, la nature de la relation liant le parasitisme à la nuisibilité du Carpocapse, celle-ci exprimant l'abondance et l'activité du ravageur (GEIER, 1957). C'est sur la seule base de cette relation qu'on pourra procéder à une première estimation du rôle joué par les parasites dans la limitation du Carpocapse.

Quelle que soit la somme des travaux nécessaires à une interprétation écologique correcte de l'action des parasites, on doit admettre aujourd'hui que ces parasites existent, qu'ils sont sans doute capables d'influer sur la nuisibilité du Carpocapse et que la recherche appliquée à la protection des végétaux ne doit plus méconnaître leur activité ¹.

REMERCIEMENTS.

Je tiens à exprimer ma très vive gratitude à M. le Dr Ch. FERRIÈRE, Conservateur au Muséum d'Histoire naturelle de Genève, Directeur du Service d'Identification des Insectes entomophages de la Commission internationale de lutte biologique. Sans ses encouragements, son aide et ses conseils dispensés quotidiennement, sans la documentation dont il m'a fait bénéficier, ce travail n'aurait pas été mené à chef. Il faut souligner à ce propos combien peut être féconde la collaboration directe du systématicien et de l'écologiste,

¹ Depuis la rédaction de cet article, C.R. MACLELLAN, de Kentville N.S., a en outre attiré l'attention de l'auteur sur l'importance de la destruction des larves de Carpocapse par les prédateurs généraux.

pour souhaiter non seulement qu'elle se développe, mais qu'elle soit reconnue à l'avenir comme la condition préalable de toute recherche en matière d'entomologie appliquée.

Ma reconnaissance va également à M. le professeur A. LINDER, du Laboratoire de Statistique mathématique de l'Université et à M. le Dr E. DOTRENS, Directeur du Muséum, pour avoir généreusement facilité mon activité à Genève.

Je remercie enfin M. L.-P. MESNIL, sous-directeur du Service d'Identification des Insectes entomophages, qui a bien voulu déterminer les Diptères apparus dans mes élevages, et M. Ch. BROMM, photographe de l'Hôpital cantonal de Genève, à qui je dois la documentation photographique illustrant ce travail.

SUMMARY.

This paper is an introduction to a study of host-parasite relationship in Codling Moth populations near Geneva.

About 800 Codling Moth larvae have been captured in 1955 and bred through to adults in 1956: the parasites observed are listed; their systematics and bionomics are briefly reviewed.

Evidence based on comparative measurements of the head capsule of larval exuviae after adult emergence suggests that:

- i) the Codling Moth cocoon is spun by fifth instar larvae exclusively;
- ii) mature non parasitized larvae form a normally distributed population, significantly bigger with regard to size of body than larvae parasitized either by *P. vulnerator* or by *A. quadridentatus*, the latter being intermediate between the normal fifth and fourth instars. Parasitism by *T. enecator* and *E. tragica* does not affect larval size significantly in the present case;
- iii) the total population of mature parasitized Codling Moth larvae examined after adult emergence differs quite significantly from the population of healthy larvae, whereas its parameters equal those of the total population of larvae prematurely dead without having spun a complete second cocoon in the breeding cages. It is thought that most of the latter must be considered as having been parasitized and their number should be added to the total of emerged parasites.

Following ecological points are briefly discussed: unity in the period of Spring moth emergence, notwithstanding differences in the time of larval maturity; relative uniformity of the rate of parasitism in four unsprayed apple orchards under survey; high degree of parasitism observed on walnut trees; considerable differences in the specific structure of local parasite populations; impossibility of assessing the practical "value" of parasites before rates of parasitism and levels of Codling Moth damage have been correlated over long periods.

LITTÉRATURE CITÉE

- ANDRÉ, E., 1888. *Species des Hyménoptères: Braconides I.* Beane.
- ARMSTRONG, L., 1945. *Differences in the life history of Codling Moth attacking pear and apple.* Canad. Ent. 77 (12): 231-3.
- BAER, W., 1921. *Die Tachinen als Schmarotzer der schädlichen Insekten* Z. angew. Ent. 7: 349-423.
- BASINGER, A. J. and SMITH, H. S., 1946. *Notes on the time of emergence, longevity and oviposition of Codling Moth from walnuts, apples and pears.* Bull. Dept. Agric. Calif. 35: 37-8.
- BENDER, E., 1953. *Vergleichende Untersuchungen über Laspeyresia janthinana Dup. and Carpocapsa pomonella L.* Verh. Deutsch. Ges. f. angew. Ent., 12. Mitglversamml.
- BOVEY, P., 1937. *Recherches sur le Carpocapse des prunes.* Rev. Pathol. vég. Ent. agr. France 24: 189-317.
- BRAGINA, A., 1926. *Parasites of Cydia pomonella L. near Belgrade.* Glasnik Centralnog Higijensk. Zavoda 1: 60-2.
- COX, J. A., 1932. *Ascogaster carpocapsae Vier., an important parasite of Cydia pomonella L.* Tech. Bull. N. Y. St. Agr. Exp. Sta. 188.
- FLANDERS, S. E., 1953. *Predatism by the adult hymenopterous parasite and its role in biological control.* J. econ. Ent. 46 (4): 541-4.
- GARLICK, W. G., 1948. *A five-year study of Codling Moth larval habits and adult emergence.* Sci. Agr. 28: 273-92.
- GEIER, P., 1957. *De la nuisibilité du Carpocapse: observations, remarques, suggestions.* Mitt. Schweiz. ent. Ges. 30:
- LINDER, A., 1951. *Statistische Methoden.* Bâle: Birkhäuser.
- LINDNER, E., 1952. *Die Fliegen der palaearktischen Region*, 64 g: 250 Stuttgart: Schweizerbart.
- MEYER, N. F., 1931. *Revision der Tribus Anomalonini.* Konowia 10: 1-14.
- MARCHAL, P., 1936. *Les Trichogrammes.* Ann. Epiph. 2 (4): 448-551.

- NAPHTALI, D. K., 1940. *The introduction of two European parasites of the Codling Moth into Canada*. Rep. ent. Soc. Ont. 71: 44-7.
- PERKINS, J. F., 1939. *The Ephialtes parasitizing the Codling Moth*. Bull. ent. Res. 30: 307-8.
- 1941. *A synopsis of the British Pimplini, with notes on the synonymy of European species*. Trans. R. ent. Soc. Lond. 91: 637-59.
- ROSENBERG, H. T., 1934. *Biology and distribution in France of the larval parasites of Cydia pomonella L.* Bull. ent. Res. 25: 201-56.
- SCHMIEDEKNECHT, O., 1902-36. *Opuscula Ichneumonologica*. Blankenburg in Thür.
- SCIARRA, G., 1915. *Contribuzione alla conoscenza della Carpocapsa pomonella L.* Boll. Lab. Zool. Gen. R. Sc. Sup. Agr. Portici 10: 33-50.
- SIMMONDS, F. J., 1944. *Observations on the parasites of Cydia pomonella in Southern France*. Sci. Agr. 25: 1-30.
- STEFFAN, J. R., 1952. *Les espèces françaises du genre Perilampus Latr.* Bull. Soc. ent. France 57: 68-74.
- SZEPLIGETI, Gy., 1908. *Braconiden aus der Sammlung des Ungarischen National-Museums*. Ann. Mus. Nat. Hung. 6: 410.
- WIESMAN, R., 1937. *Neues von der Obstmade*. Schweiz. Z. f. Obst- u. Weinbau 46: 193-7.
- WIGGLESWORTH, V. B., 1939. *The principles of insect physiology*. London: Methuen.
- WILLIAMS, C. B., 1951. *Changes in insect populations in the field in relation to preceding weather conditions*. Proc. R. Soc. B 138: 130-56.
-

Un nouveau *Phrynobatrachus* du Cameroun

par

Jean-Luc PERRET

(Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel, Suisse. —
Foullassi-Sangmelima, Cameroun.)

(Avec 2 figures dans le texte.)

La région montagneuse ouest du Cameroun, qui compte déjà plusieurs espèces endémiques et où nous avons récemment redécouvert *Chamaeleo quadricornis* Tornier et *Lygosoma (Leiolepisma) vingintiserierum* Sjöstedt, vient de nous livrer encore un *Phrynobatrachus* tout à fait remarquable.

Bien que NOBLE (1924: 185) ait montré que le genre *Phrynobatrachus* n'était pas réellement valable parce que rien ne le séparait de façon absolue du genre *Arthroleptis*, à cause des nombreuses formes intermédiaires, aucun auteur n'a jusqu'ici prouvé sa synonymie définitive. Au contraire, LAURENT (1941: 192) a relevé les différences morphologiques des deux genres et souligné les tendances éthologiques (tendance à la vie terrestre des *Arthroleptis* à palmure faible ou nulle et tendance à la vie aquatique des *Phrynobatrachus* à palmure apparente ou développée).

Notre nouvelle espèce est bien un *Phrynobatrachus sensu stricto*.

Phrynobatrachus cricogaster n. sp.

Holotype: 1 ♂ Massif du Manengouba, 30 km de Nkongsamba, 1000 m, forêt de montagne; n° 923.31 Muséum de Genève. Capturé le 7.9.1956.

Paratypes: 2 ♂♂. Mêmes lieu de capture et date. N° 923.32 et n° 923.33. Muséum de Genève.

Diagnose: Petite espèce (24 mm de long.), de forme modérément élancée avec une palmure postérieure développée aux trois quarts et se différenciant des autres espèces du genre par le grand nombre de tubercules métatarsiens et tarsiens (7 en tout) dont le dernier forme un petit éperon au talon ainsi que par la coloration ventrale très caractéristique. (Fig. 1.)



FIG. 1. — *Phrynobatrachus cricogaster* n.sp.
Holotype au centre et deux paratypes. Face ventrale. Phot. Perret.

Description: Aspect raniforme. Une papille au milieu de la langue, à l'extrémité d'un sillon creusé jusqu'à la base de la langue. Museau obtus, de la même longueur que l'orbite, dépassant la mâchoire inférieure d'environ 1 mm. Canthus rostralis non marqué. Région frénale légèrement mais nettement concave. Tête un peu plus large que longue. Tympan visible, petit, mesurant la moitié du diamètre horizontal de l'œil.

Doigts obtus, à peine dilatés en disques, ce caractère présent chez les deux doigts externes surtout. Orteils légèrement mais nettement dilatés en disques à l'extrémité, palmés comme l'indique le tableau suivant:

	Côté interne	Côté externe
1 ^{er} orteil	—	1/2 phalange libre
2 ^{me} orteil	1 phalange libre	1/2 phalange libre
3 ^{me} orteil	1 phalange libre	1 phalange libre
4 ^{me} orteil	2 phalanges libres	2 phalanges libres
5 ^{me} orteil	1/2 phalange libre	—

Tubercules sous-articulaires moyens. Tubercule métatarsien interne ovoïde, mesurant environ le tiers du premier orteil en longueur. Un tubercule *tarsien interne, conique, nettement différencié*,



FIG. 2. — *Phrynobatrachus cricogaster* n. sp.
Paratype. Phot. Perret.

se trouvant juste au milieu du tarse dans sa longueur. Un tubercule métatarsien externe suivi de trois tubercules tarsiens, répartis le long du tarse et enfin un véritable petit éperon au talon, pointu, deux fois plus haut que les autres tubercules tarsiens (hauteur moyenne), soit une hauteur de 1 mm environ. L'articulation tibio-tarsienne atteint le milieu de l'œil.

Peau finement granuleuse sur le dos, les côtés et le dessus des membres, plus grossièrement granuleuse sur la tête et particulièrement sur les paupières mais les verrucosités sont mousses (fig. 2). Dessous du corps et des membres lisse. Sur le dos deux plis saillants en forme de V opposés par la pointe, prolongés après un étranglement par deux petits plis divergents jusqu'aux trois quarts du dos. D'autres plis moins importants sur les côtés du corps et sur les membres.

Coloration dorsale brun noir, uniforme chez le type (avec deux grandes taches scapulaires brun rouge, bien tranchées, chez un paratype). Dessus des membres brun rouge barré de foncé (couleur du dos), soit une demi-barre au milieu des cuisses et trois barres sur les tibias chez le type (trois demi-barres sur les cuisses chez un paratype). Dessous de couleur de fond crème, tranchant sur les côtés avec la couleur dorsale. Gorge enfumée avec une tache médiane crème. Ventre orné d'un petit cercle foncé central, à centre clair chez le type et un paratype (uniformément foncé chez l'autre paratype) entouré d'une couronne presque concentrique qui est tangente à la limite foncée des flancs et qui passe par ailleurs juste dans l'aîne. (Fig. 1.)

Mensurations de l'holotype (en mm):

Longueur du museau à l'anus	23,6
Longueur de la tête (museau-commissure)	8,0
Largeur de la tête	8,4
Distance narine-bout du museau	1,8
Distance œil-narine	1,8
Distance entre les angles oculaires antérieurs	3,8
Espace interorbitaire	2,0
Largeur de la paupière supérieure	2,0
Longueur de l'œil	3,5
Diamètre horizontal du tympan	0,9
Longueur du troisième doigt (avec le métacarpe)	6,3
Longueur de la cuisse	11,0
Longueur du tibia	11,2
Longueur du pied (du talon à l'extrémité du 4 ^{me} orteil)	16,5

Remarque sur le genre Phrynobatrachus au Cameroun:

Deux espèces du genre ont été décrites du Cameroun et nous trouvons en tout dix formes signalées dans ce pays, soit:

Phrynobatrachus natalensis (A. Smith), 1849, localités: Tchamba (ANGEL 1930); Poli-Garoua (MERTENS 1938); Bamenda (MERTENS 1940); Ngaouyanga, Mayo-Sala (MONARD 1951); Bafia (PERRET et MERTENS 1957).

Phrynobatrachus perpalmatatus Boulenger 1898, localités: Bangwa-Bafang (PERRET et MERTENS 1957).

Phrynobatrachus steindachneri Nieden 1910, localités: Banjo-Bamenda, *type* (NIEDEN 1910); Bamenda (MERTENS 1940); Mont Bambouto (ANGEL 1940); Foulassi, etc. (PERRET et MERTENS 1957)¹.

Phrynobatrachus plicatus (Günther) 1858, localités: Buéa (BLGR. 1906); Bipindi, Efulen, Victoria, Buéa (NIEDEN 1910); Edéa (MÜLLER 1910); Bitye, Efulen (BARBOUR 1911); Akok-Kribi (LOVERIDGE 1936); Eshobi (PARKER 1936); Mubenge (MERTENS 1938); Ngam (PERRET et MERTENS 1957).

Phrynobatrachus elberti (Ahl) 1925, localités: Buala Uam-Riv., *type* (AHL 1925); Efulen (Coll. Brit. Mus.).

Phrynobatrachus liberiensis Barbour et Loveridge 1927, localités: Eshobi (PARKER 1936).

Phrynobatrachus latifrons Ahl 1924, localités: Dodo-Garoua (LOVERIDGE 1946 b).

Phrynobatrachus giorgii Witte 1921, localités: Ngaouyanga (MONARD 1951).

Phrynobatrachus francisci Boulenger 1912, localités: Dodo-Garoua (DEKERT 1938).

Phrynobatrachus acridoides (Cope) 1867, localités: Ekuri, Obubra, Tinta (PARKER 1936).

RÉFÉRENCES

- LAURENT, R. 1941. *Contribution à l'Ostéologie et à la Systématique des Ranides africains. Deuxième Note.* Rev. Zool. Bot. afr. 34: 192-235.
- NOBLE G.K. 1924. *Contributions to the Herpetology of the Belgian Congo based on the Collection of the American Museum Congo Expedition, 1909-1915.* III. *Amphibia.* Bull. Amer. Mus. nat. Hist. 49: 147-347.

¹ Nous pensons que notre matériel attribué à cette espèce représente une forme forestière distincte, même une espèce propre car nous venons de récolter du matériel qui nous amène à formuler cette remarque. Nous reviendrons sur la question.

Die Schwanzregeneration der *Xenopus*larve unter dem Einfluss phasenspezifischer Hemmstoffe.¹

von

F. E. LEHMANN

Zoologisches Institut der Universität Bern.

(Mit 2 Textabbildungen.)

1. *Das Prinzip der phasen- und prozessspezifischen Wirkungen histostatischer Hemmstoffe.*

Die normale Regeneration der Schwanzspitze bei der *Xenopus*larve ist ein zeitlich genau befristeter Prozess. Er wird von einer Reihe hintereinander gestaffelter Teilprozesse getragen (s. Tabelle II). Unmittelbar nach der Amputation der Schwanzspitze setzt die Wundphase ein, in der sehr bald eine Aktivierung der wundenahen Gewebezellen einsetzt. Mit dem beginnenden Wundverschluss (ca. 8—10 Stunden nach dem Eingriff) durch mobile Zellen, schliesst die traumatische Periode ab und es folgt als direkte Fortsetzung die Phase der (Zellwanderung und) Blastembildung. Die an die Wunde angrenzenden Gewebe der Amputationszone werden bis in die Tiefe eines Millimeters aktiviert (BADERTSCHER, unpubl.) und liefern die Zellen, die 24—72 Stunden nach der Amputation die gewebspezifischen Blasteme für das Regenerat aufbauen. Das Regenerat setzt sich mit seinen undifferenzierten embryonalen

¹ Ausgeführt mit Unterstützung des Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung. Herrn Dr. G. BENZ danke ich für die Ausführung der Graphica und Fr. V. SIEGFRIED für die Assistenz bei den Experimenten. Als Vortrag am 13.4.1957 an der International Conference of Embryology in Cambridge (England) gehalten.

Zellen relativ scharf ab vom histologisch differenzierten Stumpfgewebe. Die Blastembildung hat ihren Höhepunkt am Ende des 3. und 4. Tages erreicht; in dieser Periode treten zahlreiche Mitosen auf, zunächst im Stumpf und dann auch in den Blastemen des Regenerates. Vom 5. bis zum 10. Tage erfolgt vor allem das Auswachsen und die funktionelle und histologische Differenzierung des Regenerates und die formgerechte Abstimmung von Regenerats- und Stumpfgestalt aufeinander.

Werden die regenerierenden Kaulquappen vom 0. bis zum 10. Tage in Lösungen histostatischer Hemmstoffe gezüchtet (LEHMANN und BRETSCHER 1952, LEHMANN 1954) dann erfolgt bei vielen Hemmstoffen eine nur partielle Hemmung der Regeneration, die sich in der Bildung eines verkürzten Schwanzes äussert. Diese quantitativ bestimmbare Hemmung ist insofern selektiv, als in erster Linie nur die Regeneration, nicht aber die allgemeine Vitalität der behandelten Tiere wesentlich betroffen wird. Die Kombination von zwei verschiedenen Hemmstoffen führte bei verschiedenen Substanzpaaren zu totaler Hemmung der Regeneration (LEHMANN 1954) so bei Aminoketon E_9 + Colchicin; Aminoketon E_9 + Chinoxalin 3576 (s. Tab. I).

Das führte uns zur Hypothese, dass bei solchen Substanzpaaren der eine Partner selektiv einen frühzeitig aktiven Teilprozess und der andere einen spät aktiven Teilprozess im Regenerationsgeschehen treffe. Es war damit die Annahme gemacht worden, dass einzelne Histostatica nicht unspezifisch alle regenerativen Teilprozesse hemmen, sondern dass ein gegebenes Histostaticum nur eine relativ eng umschriebene prozess- und phasenspezifische Wirksamkeit entfalte. Es müsste dann die Kombination der Wirkungsmuster von zwei verschiedenen Histostatica einen sehr wesentlichen synergistischen Effekt im Sinne von VELDSTRA (1956) entfalten (kombinative Einheitsleistung LEHMANN 1933, 1945).

Unsere Hypothese kann weiter geprüft werden an der Reaktion des Regenerationsgeschehens auf verkürzte Behandlung einer bestimmten Periode mit einem Histostaticum, sei es zu Beginn, sei es zu Ende der Regeneration. Alle unsere bisherigen Versuche an der Mitose des *Tubifex*-Eies wie am regenerierenden *Xenopus*-schwanz haben ergeben, dass eine solche verkürzte und zeitlich besser gezielte Behandlung mit einem Hemmstoff nahezu so wirksam sein kann wie eine Dauerbehandlung. Dabei liegen die Maxima der

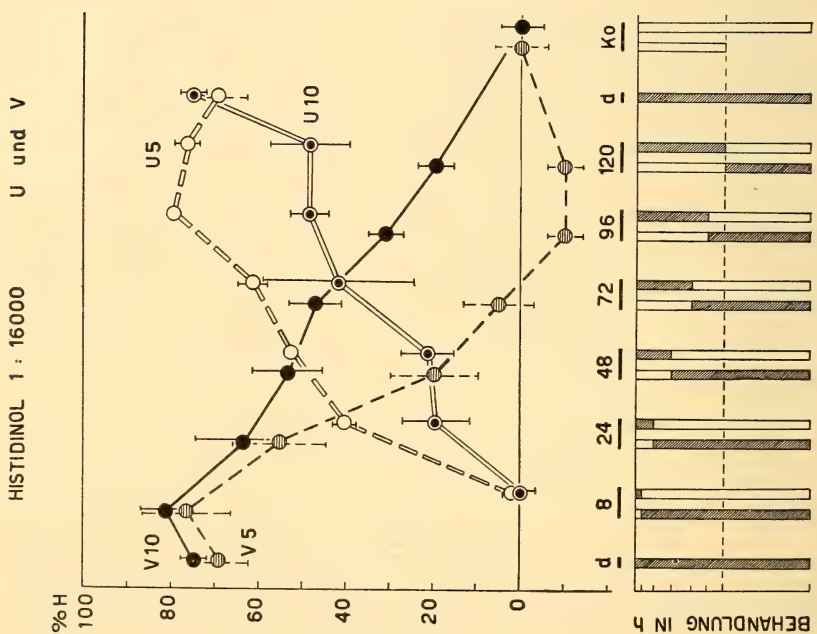
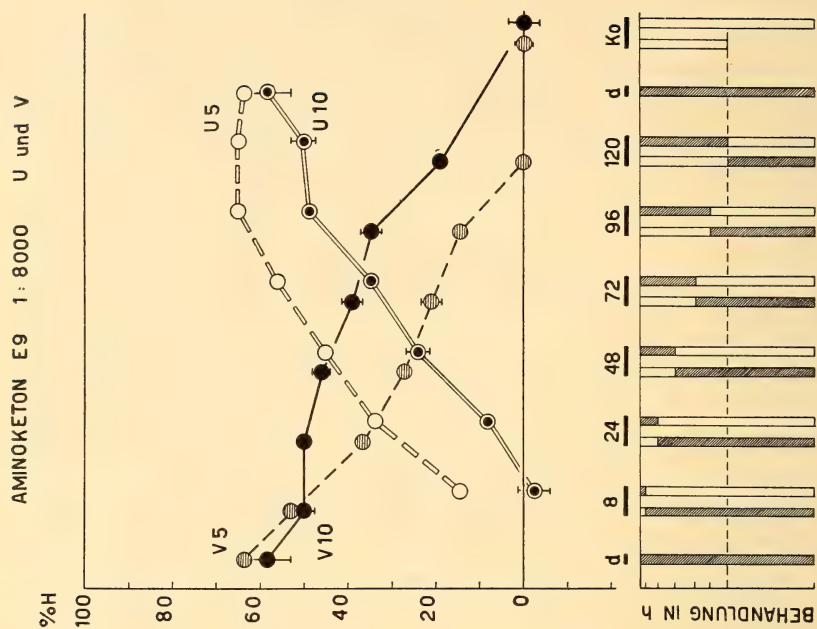
erzielten Wirkungen für verschiedene Stoffe deutlich in verschiedenen Phasen (LEHMANN und BRETSCHER 1952). Für die Frage nach der Beteiligung verschiedener biochemischer Faktoren an der Regeneration sind diese Befunde aufschlussreich. Das ist auch der Grund, dass eine grössere Reihe von *Histostatica* auf ihr phasenspezifisches Wirkungsmuster untersucht wurde.

TABELLE I.

Verwendete Hemmstoffe und ihre Effekte.

	Konzentration	Hemmeffekt bei (d)	
		H %	Klasse
Hydrochlorid von DL-5-Methyl-3-amino-hexanon-(2) = Aminoketon E5 (ERLENMEYER)	1: 16 000 1: 10 000	50 68	I II
Hydrochlorid von DL-4-Amino-6-methyl-heptanon-(3) = Aminoketon E9. (ERLENMEYER)	1: 8 000	58	I
Histidinol (Aminoalkohol)	1: 16 000	75, 81	II
Tyrosinol (Aminoalkohol)	1: 8 000	53	I
Dihydrochlorid von 1-Diäthylamino-3-phenyl-3-(N-methyl-β-piperidyl)-propan. (Ciba) = Piperidin 5110.	1: 16 000	55	I
Hydrobromid von N-methyl-γ-(1-p-oxyphe-nyl-propyl-(2))-piperidin (Ciba) = Piperidin 5552.	1: 32 000	47	I
Dihydrochlorid von 1-Piperidino-4-(N-methyl-γ-piperidyl)-pentan. (Ciba) = Piperidin 6197.	1: 8 000	59	I
1,2-Dihydro-3-methyl-7-(oder 6) aethoxy-chinoxalon-(2). (Ciba) Chinoxalin 3576	1: 50 000	80, 97	II
D(+)-Glucosamin-Hydrochlorid	1: 500	33	I
Colchicin (s. LEHMANN & GEIGER)	1: 125 000	99	II
Demecolcin = Desacetyl-methyl-colchicin (Ciba) (s. LEHMANN & GEIGER)	1: 64 000	32, 45	I
Kombination von E9 + Colchicin	E9 1: 16 000 Colch. 1: 500 000	88	II
Podophyllin (roh)	1: 2 000 000	18	0
2,5-Bisaethyleniminobenzochinon - (1,4) 14863 (Ciba)	1: 8 000 000	52	I
2,5-Bisaethyleniminohydrochinon - (1,4) 15688 (Ciba)	1: 2 000 000	29	0
CoSO ₄	1: 64 000	35, 43	I

Der Hemmeffekt H % ist 100 % wenn die Länge des Regenerates, verglichen mit der Kontrolle = 0 % ist und er beträgt 0 %, wenn die behandelten Regenerate die volle Länge der Kontrollregenerate erreichen. Hemmeffekte bis 60 % werden der Klasse I, solche von 61-100 % der Klasse II zugeteilt. Wenn zwei Werte für H bei Dauerbehandlung (d) angegeben werden, so entstammen diese verschiedenen Serien.



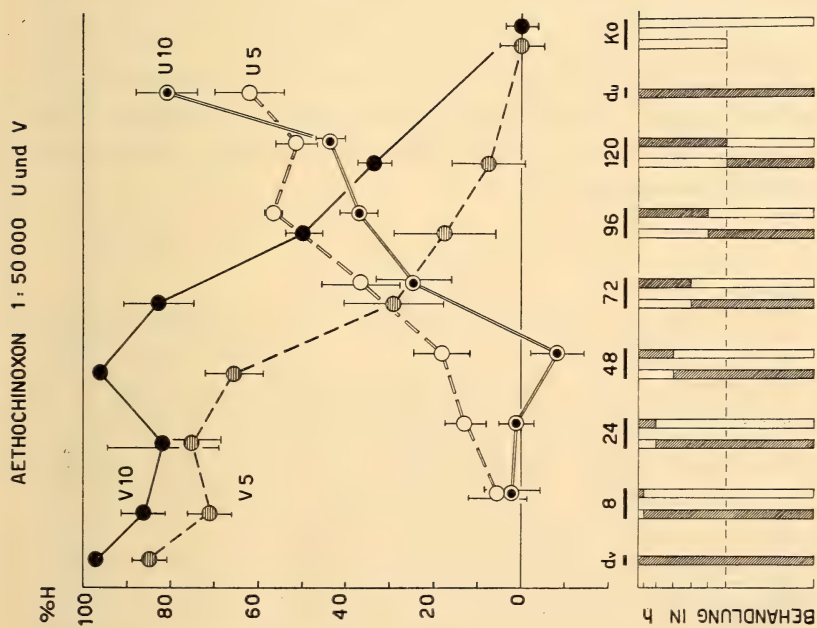
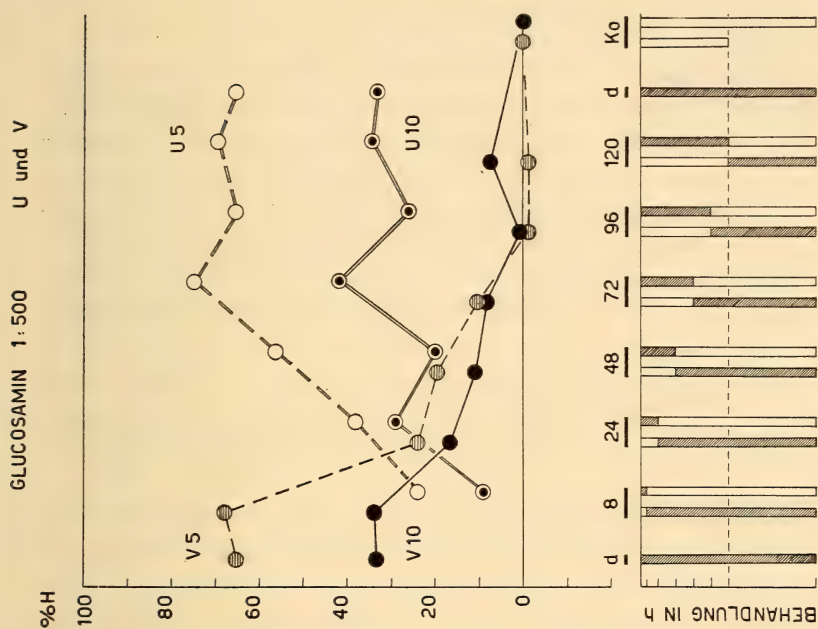


Abb. 1 (Legende siehe Fussnote Seite 538)

2. Übersicht der Hemmstoffe und ihrer Anwendungsart.

Die Hemmstoffe auf Tabelle I lassen sich in Gruppen zusammenfassen. 2 Aminoketone (s. LEHMANN und BRETSCHER 1952), 2 Aminoalkohole (s. LEHMANN 1954), 3 Piperidine, 1 Chinoxalin (s. LEHMANN und BRETSCHER 1952) und Glucosamin (LEHMANN 1954). Alle diese Stoffe kommen in Frage als Stoffwechselantagonisten des Regenerationsgeschehens. Die Tropolonderivate Colchicin und Demecolcin sind cytoklastisch und antimigratorisch wirksam (LEHMANN und GEIGER 1955). Podophyllin hat ebenfalls antimitotische Wirkungen und die Iminobenzochinone (MARXER, 1955, PETERSEN, GAUSS und URBSCHAT 1955) gelten als Carcinostatica besonderer Art. Das Kobaltsulfat ist ein Antagonist des Aminosäurestoffwechsels, insbesondere des Histidinumsatzes (s. LEHMANN 1954).

Alle die genannten Stoffe wurden in 10-tägiger Dauerbehandlung (*d*) in geometrisch gestuften Konzentrationsreihen auf ihre Hemmung der Regeneratslänge untersucht. Die stärksten nicht toxischen Konzentrationen wurden für die verkürzte Behandlung gewählt. Sie sind in der Tabelle I mit ihren (*d*)-Hemmeffekten aufgeführt. Diese wurden nach ihrer Stärke klassiert. Klasse 0 enthält die Hemmwerte von 0—29%, Klasse I solche von 30—60% und die Klasse II die stärksten Hemmeffekte von 61—100%. Zur Klasse II gehören nur Histidinol, Chinoxalin und Colchicin. Die grösste Zahl der von uns als wirksam befundenen Histostatica befindet sich in Klasse I.

ABB. 1.

Dosiswirkungskurven für die Hemmeffekte von 4 verschiedenen Histostatica bei verkürzter („unterbrochener“ und „verspäteter“) Behandlung. Auf der Abszisse sind die Hemmwerte in %, auf der Ordinate die Zeitpunkte angegeben, bei denen die „u“-Behandlung aufhörte bzw. die „v“-Behandlung einsetzte. Die Stäbe unter den entsprechenden Zeitpunkten geben die Länge der behandlungsfreien Zeit mit weiss, die der Behandlungsperiode mit dunklem Ton an. Dementsprechend sind die Stäbe für „d“-Behandlung ganz dunkel, die für die unbehandelten Kontrollen ganz hell gehalten. In allen Versuchen wurden die Hemmeffekte am 5. und am 10. Tage bestimmt und je in einer Kurve graphisch dargestellt. Die Kurven geben also ein Bild von der Veränderung der Hemmbarkeit der Regeneration in Abhängigkeit von der u- bzw. v-Behandlungsdauer (Kurve u_5 unterbrochene, Kurve u_{10} ausgezogene Doppelinie, Kurve v_5 unterbrochene, v_{10} ausgezogene einfache Linie). a) Histidinol; b) Aminoketon E₉; c) Chinoxalin 3576 (bezeichnet als Aethochinoxon); d) Glucosamin. Die Senkrechten in den einzelnen Punkten geben die Streuungen.

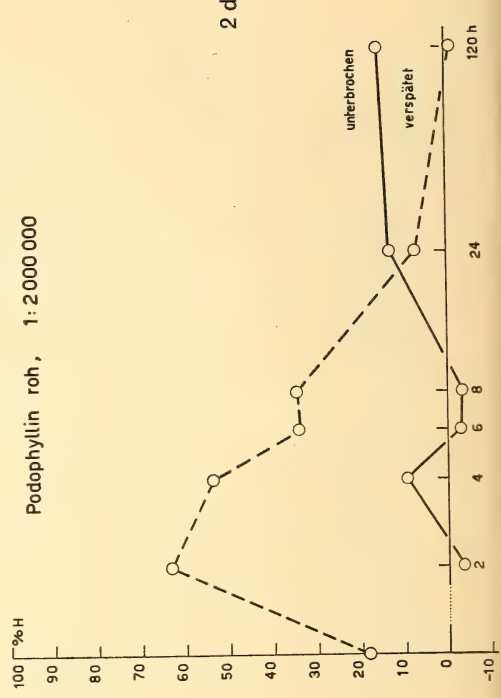
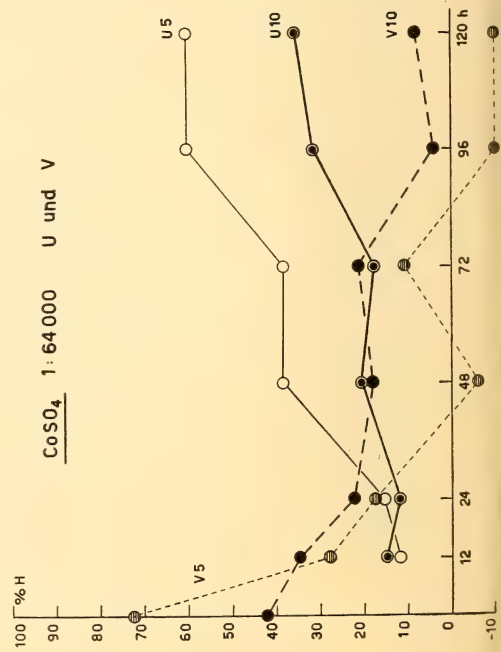
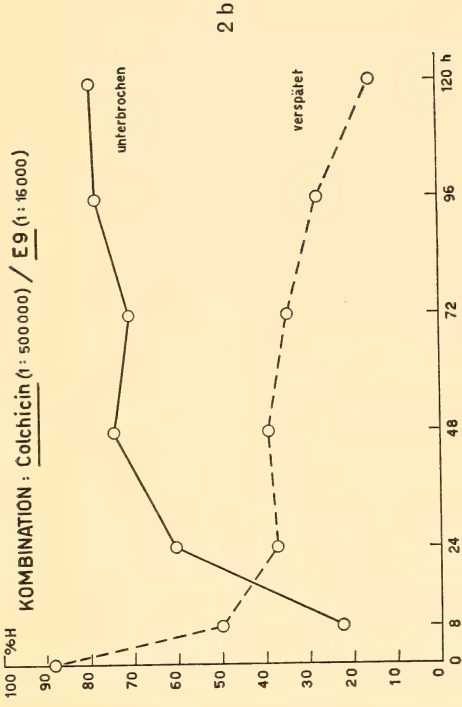
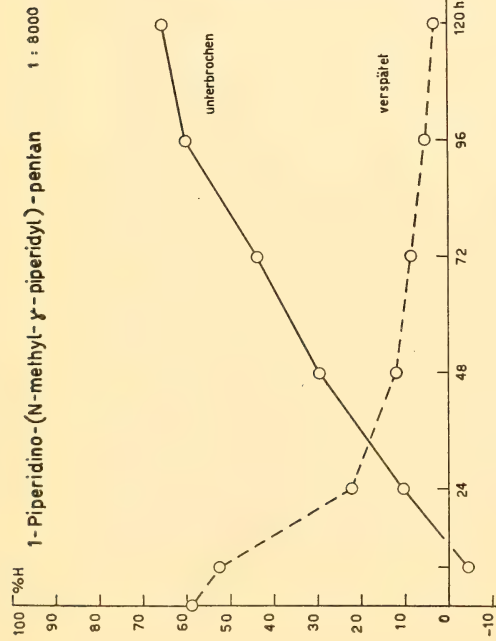
Zwei Typen verkürzter Behandlungsweise wurden angewandt (LEHMANN und BRETSCHER 1952). Sofort einsetzende Kurzbehandlung, nach x Stunden unterbrochen, trifft die frische Wunde und die anschliessenden frühen Regenerationsperioden (u-Behandlung). Die verspätete Behandlung (v) setzt x Stunden nach der Amputation ein und trifft bei der von uns gewählten zeitlichen Abstufung in zunehmendem Masse nur die späteren Phasen der Regeneration. Die Ergebnisse der u- und der v-Behandlung geben nun für jeden Stoff ein sehr charakteristisches Wirkungsmuster hinsichtlich der Früh- und Spätphase der Regeneration.

3. *Ergebnisse abgekürzter Behandlung.*

a) *Regulation der Hemmwirkung.*

Mit wenigen Ausnahmen (Colchicin und Iminobenzochinone) erreicht die verkürzte Behandlung nicht die gleichen maximalen Hemmwerte wie Dauerbehandlung während 10 Tagen. Somit erfolgt in den behandlungsfreien Zeiten nach verkürzter Behandlung bis zum 10. Tage eine Regulation des Regenerationswachstums auf das Normale hin. Das zeigt sich deutlich aus der Diskrepanz der 5- und 10- Tagewerte der Hemmung bei unterbrochener und verspäteter Behandlung. Nach unterbrochener Behandlung sind die prozentualen 5-Tagewerte gewöhnlich regressiv gegenüber den Werten vom 10. Tage (s. Beispiel von Histidinol, Abb. 1 a). Dasselbe gilt mit umgekehrten Vorzeichen für die verspätete Behandlung, die nur einen Teil der Früh- und die ganze Spätphase trifft. Hier verhalten sich die Hemmwerte des 5. Tages zu denen des 10. Tages progressiv, indem die durch frühe Behandlung erreichten Hemmeffekte durch die Nachbehandlung in der Spätphase deutlich verstärkt werden (s. Beispiele von Histidinol und Chinoxalin 3576, Abb. 1 a, 1 c).

Das Auftreten progressiver und regressiver Veränderungen der Hemmwerte des 5. Tages zeigt deutlich, dass einige unserer Hemmstoffe eine relativ lange Periode des Regenerationswachstums hemmend beeinflussen können. (Aminoketone, Histidinol, die Piperidine 5110 und 5552 sowie das Chinoxalin 3576.) Trotz der mehr oder minder deutlichen Regression der 5-Tagewerte ergibt sich doch bei sehr vielen Substanzen eine sehr beachtliche Höhe des 10-tägigen Hemmeffektes nach Kurzbehandlung. Kurzbehandlung



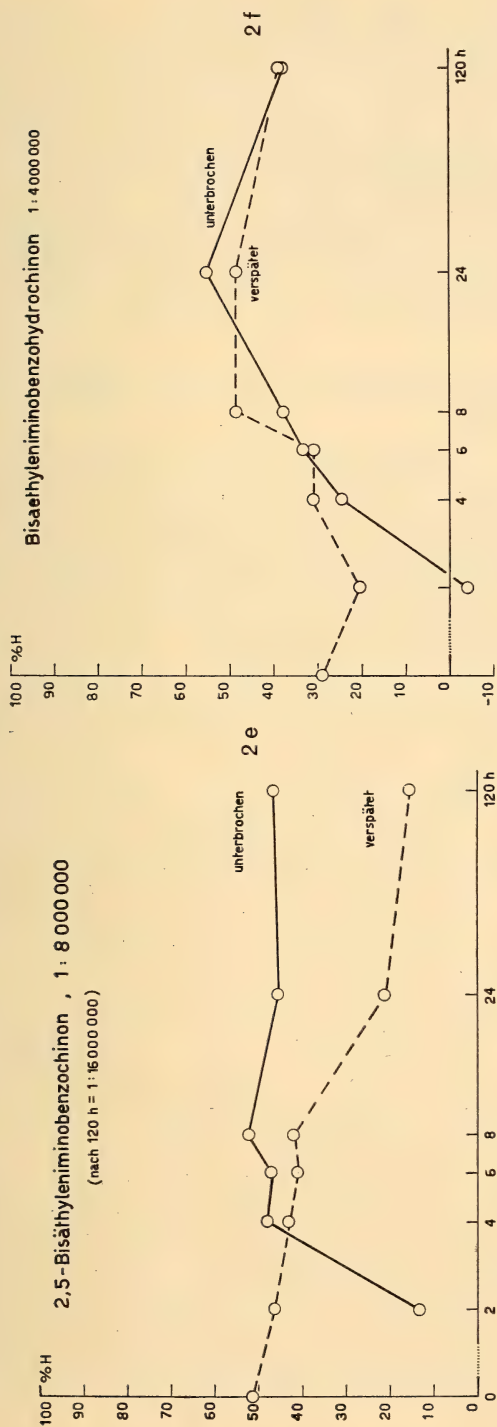


ABB. 2.

Der Hemmeffekt verschiedener Stoffe nach verkürzter Behandlung (ausgezogene Linie: Kurve der Hemmeffekte nach 10 Tagen bei unterbrochener Behandlung; unterbrochene Linie: Hemmeffekte nach 10 Tagen bei verspäteter Behandlung.)
Fig. 2 a-c lineare Zeitskala auf der Abszisse, Fig. 2 d-f logarithmische Zeitskala, da hier die Behandlung schon bei 2 Stunden nach der Amputation unterbrochen bzw. eingesetzt wird.

erzeugt somit in vielen Fällen deutliche partielle Hemmeffekte der Klasse I (30—60%) und auch II (61—100%). Die Regression der 5-tägigen Hemmeffekte scheint für die einzelnen Substanzen charakteristisch zu sein. Nach Behandlung mit Glucosamin (Abb. 1 d) und CoSO_4 (Abb. 2 c) treten besonders starke Regressionen auf, ebenso nach Histidinol (Abb. 1 a) und Tyrosinol. Sie erreichen ein geringeres Ausmass bei den Aminoketonen (Abb. 1 b) und sind sehr niedrig beim Piperidin 6197. Aus diesen Befunden ergeben sich Hinweise auf die Besonderheit der beteiligten biochemischen Systeme.

b) *Die spezielle Empfindlichkeit der Wund-, der Blastem- und der Differenzierungsphase.*

Die Wundphase (0—8 Stunden). Schon LÜSCHER, BERNHARD und später LEHMANN und GEIGER haben das rasche Haften des Colchicins in der frischen Wundfläche innerhalb von 2 Stunden nachgewiesen. Das ergab sich aus der starken Wirkung sehr kurzer u-Behandlung (s. Tabelle II) und der raschen Empfindlichkeitsabnahme gegenüber der v-Behandlung, die wohl zum Teil auf der Überhäutung der Wunde beruht. Bezeichnenderweise verhält sich die Kombination E_9 +Colchicin ähnlich (Abb. 2 b). Bei der v-Behandlung kommt nur noch die Aminoketon-Komponente zur Wirkung (s. Tabelle I).

Analog wie das Colchicin erreichen die beiden Iminobenzochinone (Abb. 2 e und f) bei unterbrochener Behandlung der traumatischen Phase schon zwischen 8 und 24 Stunden ein Maximum des Hemmeffektes. Im Gegensatz zum 2,5-Bis-aethylen-iminobenzochinon verliert das 2,5-Bisaethyleniminohydrochinon bei verspäteter Behandlung nicht stark an Wirkung (Abb. 2 f), was andeutet, dass die intakte Larve für das Hydrochinon auch später noch durchlässig bleibt, nicht aber für das Chinon (Abb. 2 e). Eine Sonderstellung nimmt das Podophyllin ein (Abb. 2 d), das bei um 2—8 Stunden verspäteter Behandlung eine sehr auffallende Steigerung des Hemmeffektes bewirkt.

Die Blastemphase liegt zwischen 24 und 96 Stunden nach der Amputation. Eine Reihe von Hemmstoffen bewirkt dann eine sehr starke Hemmung, wenn sie die Phase von 0—72 oder 0—96 Stunden treffen. Das gilt für die Aminoketone, die Aminoalkohole, die Piperidine und das Glucosamin. Stoffe, die auch noch die 3. Phase,

TABELLE II.
Phasenspezifische Hemmeffekte.

Stunden		Phase 1			Phase 2			Phase 3		
		Trauma + Beginn Wundverschluss			Ende Wundverschluss Migration. Mitosen. Blastembildung			Wachstum Differenzierung Formgestaltung		
		0	2	8	24	48	72	96	120	240
E ₉	u	0	—	2 0	8 0	24 0	34 I	49 I	50 I	58 I
	v	58 I	—	49 I	50 I	46 I	39 I	34 I	19 0	0
Histidinol	u	0	—	1 0	19 0	21 0	42 I	48 I	48 I	75 II
	v	75 II	—	81 II	64 II	53 I	49 I	31 I	19 0	0
Tyrosinol	u	0	—	7 0	24 0	22 0	34 I	41 I	57 I	53 I
	v	53 I	—	59 I	35 I	27 0	27 0	20 0	15 0	0
Pip. 5110	u	0	—	7 0	6 0	3 0	21 0	47 I	47 I	55 I
	v	55 I	—	49 I	49 I	35 I	39 I	33 I	27 0	0
Pip. 5552	u	0	—	6 0	18 0	19 0	19 0	23 0	26 0	47 I
	v	47 I	—	48 I	42 I	48 I	37 I	40 I	35 I	0
Pip. 6197	u	0	—	4 0	10 0	30 I	44 I	60 I	65 I	59 I
	v	59 I	—	53 I	22 0	12 0	8 0	5 0	3 0	0
Chinoxalin 3576	u	0	—	2 0	1 0	8 0	24 0	37 I	43 I	80 II
	v	97 II	—	86 II	82 II	95 II	82 II	50 I	33 I	0
Glucosamin	u	0	—	9 0	29 0	20 0	42 I	26 0	34 I	33 I
	v	33 I	—	34 I	17 0	11 0	8 0	1 0	8 0	0
Colchicin	u	0	83 II	95 II	99 II	100 II	—	—	—	99 II
	v	99 II	97 II	77 II	50 I	13 0	—	—	—	0
Demecolcin	u	0	—	—	13 0	24 0	—	27 0	50 I	32 I
	v	45 I	—	—	36 I	33 I	—	17 0	2 0	0
E ₉ + Colchicin	u	0	—	23 0	60 I	74 II	70 II	78 II	79 II	88 II
	v	88 II	—	50 I	37 I	39 I	34 I	28 0	15 0	0
Podophyllin	u	0	4 0	3 0	13 0	—	—	—	24 0	15 0
	v	18 0	63 II	35 I	7 0	—	—	—	1 0	0
14863	u	0	13 0	52 I	45 I	—	—	—	46 I	52 I
	v	52 I	46 I	42 I	21 0	—	—	—	15 0	0
15688	u	0	2 0	38 I	55 I	—	—	—	38 I	29 0
	v	29 0	20 0	48 I	48 I	—	—	—	39 I	0
CoSO ₄	u	0	—	15 0	12 0	21 0	18 0	31 I	35 I	43 I
	v	42 I	—	35 I	22 0	13 0	21 0	4 0	8 0	0

u = sofort einsetzende Kurzbehandlung, dann nach x Stunden unterbrochen.

v = x Stunden nach der Amputation Beginn der Behandlung, dann bis Ende der 240. Stunde, verspätete Behandlung. Übrige Bezeichnungen wie auf Tabelle I.

nämlich der Differenzierung hemmen, zeigen dies durch den Ausfall der verspäteten Behandlung. Es sind dies die Aminoketone; besonders ausgesprochen spätwirkend sind Histidinol (Abb. 1 a), die Piperidine 5110, 5552 (Tabelle II) und Chinoxalin 3576 (Abb. 1 c). Frühwirkend während der Blastemphase sind, gemessen an der v-Behandlung, Tyrosinol und Piperidin 6197 (Abb. 2 a).

Eine deutliche Hemmung der *Differenzierungsphase* (120—240 Stunden) lässt sich für Chinoxalin und Histidinol nachweisen. Dass die Iminobenzochinone wesentlich die Spätphase hemmen, ergibt sich vor allem aus dem Umstand, dass sich die 5-Tagewerte sehr stark progressiv zu den 10-Tagewerten verändern, d.h. die relative Regeneratslänge ist am 5. Tage wenig, am 10. Tage stark gehemmt.

4. Die Kennzeichnung phasenspezifischer Reaktionen.

Die phasenspezifische Veränderung der Empfindlichkeit morphogenetischer Prozesse gegenüber der Einwirkung von Hemmstoffen ist schon vielfach benutzt worden, um das Determinationsgeschehen zu kennzeichnen. (Li-Empfindlichkeit des animal-vegetativen Systems bei Echinodermen, RUNNSTRÖM & HÖRSTADIUS. Li-Empfindlichkeit des Organisators bei Amphibien, LEHMANN). Die Suche nach biochemischen Zustandsänderungen, die sich mit solchen chemisch oder biologisch herbeigeführten Änderungen des Determinationszustandes korrelieren lassen, war bisher noch wenig erfolgreich. Für den Fall des regenerierenden *Xenopus*-Schwanzes scheinen nun günstigere Aussichten zu bestehen. Aus den Versuchen von JENSEN, LEHMANN und WEBER 1956, sowie aus neueren, noch unpublizierten Resultaten (H. P. v. HAHN) ergibt sich, dass der Gang der Kathepsinaktivität bei Regeneraten, die durch Aminoketone gehemmt wurden, wesentlich anders wird. Die Kathepsinaktivität nimmt bei gehemmten Regeneraten stark zu. Es ist nicht anzunehmen, dass das Kathepsinsystem allein bei der chemischen Regenerationshemmung durch verschiedenartige Stoffe betroffen werde. Zunächst einmal wird überhaupt festzustellen sein, welche der von uns untersuchten Hemmstoffe ebenfalls kathepsinaktivierend wirken und welche nicht. Nach der unterschiedlichen phasenspezifischen Hemmwirkung der geprüften Hemmstoffe wäre eher zu erwarten, dass die Kathepsinbeeinflussung je nach Wirksubstanz

verschieden sei. Es liegt auf der Hand, dass auch andere biochemische Systeme, die einen phasenspezifischen Gang zeigen, auf ihre chemische Beeinflussbarkeit zu prüfen sind. Jedenfalls ist die Bestimmung der phasenspezifischen Hemmung der Regeneration durch *Histostatica* ein wertvolles Werkzeug bei der Korrelation biochemischer und morphogenetischer Prozesse.

SUMMARY:

A review is given of 15 histostatic substances, which inhibit selectively the regeneration of the amputated tail tip of *Xenopus larvae*. The following substances were tested during a 10 days treatment: 2 aminoketones; 2 aminoalcohols; 3 derivatives of piperidine; glucosamine; colchicine; desacetylmethylcolchicine; podophylline (crude extract), 2 iminobenzoquinones and CoSO_4 . The effects of these compounds were also studied in series of "interrupted" treatment (beginning of treatment immediately after amputation and end x hours later) and in series of "delayed" treatment (beginning of treatment x hours after amputation and end always at the end of 10th day). The different substances show a different phase specificity in their inhibitory action, which is illustrated by quantitative data.

LITERATURVERZEICHNIS

- BERNHARD, W. 1947. *Regenerationshemmung und Auslösung epithelialer Wucherungen durch Colchicin am Schwanz von Rana-Larven*. Rev. Suisse Zool. 54: 713.
- JENSEN, P. K., F. E. LEHMANN and R. WEBER. 1956. *Catheptic activity in the regenerating tail of Xenopus larvae and its reaction to histostatic substances*. Helv. Physiol. Acta, 14: 188.
- LEHMANN, F. E. 1933. *Das Prinzip der kombinativen Einheitsleistung in der Biologie, im besonderen in der experimentellen Entwicklungsgeschichte und seine Beziehung zur Gestalttheorie*. Biolog. Zentralblatt, 53: 471.
- 1945. *Einführung in die physiologische Embryologie*. Birkhäuser, Basel.
- und BRETSCHER, A. 1952. *Wirkungsanalyse regenerationshemmender Stoffe mit Hilfe statistischer Methoden*. Helv. Physiol. Acta 10: 20.

- LEHMANN, F. E. 1954. *Totale Regenerationshemmung am Schwanz der Xenopuslarve bewirkt durch partiell histostatische Substanzpaare*. Rev. Suisse Zool. 61: 428.
- WEBER, R., AEBI, H., BÄUMLER, J. und ERLÉNMEYER, H. 1954. *Versuche der Kennzeichnung regenerationshemmender Lösungen von α -Amino-Ketonen*. Helv. Physiol. Acta, 12: 147.
- 1954. *Kennzeichnung regenerationshemmender Stoffe durch verschiedene Gewebereaktionen des Xenopusschwanzes*. Arch. Jul. Klaus Stiftung. 29: 359.
- und GEIGER, W. 1955. *Regenerationshemmung durch simultan oder sukzessiv wirkende Histostatica*. Helv. Physiol. Acta, 13: C60.
- — 1955. *Zur Wirkungsphysiologie verschiedener Hemmstoffe aus dem Verwandtschaftskreis des Colchicins*. Arch. Jul. Klaus-Stiftung, 30: 521.
- LÜSCHER, M. 1946. *Die Hemmung der Regeneration durch Colchicin beim Schwanz der Xenopus-Larve und ihre entwicklungsphysiologische Wirkungsanalyse*. Helv. Physiol. Acta, 4, 465.
- MARXER, A. 1955. *Über das 2,5-Bisäthylenimino-hydrochinon, eine carcinostatisch wirksame Verbindung*. Helv. Chim. Acta, 38: 1473.
- PETERSEN, Siegfried, GAUSS, Walter und URBSCHAT, Ewald. 1955. *Synthese einfacher Chinon-Derivate mit fungiziden, bakteriostatischen oder cytostatischen Eigenschaften*. Angew. Chemie, 67: 217.
- QUASTEL, H. and CANTERO, A. 1953. *Inhibition of tumour growth by D-Glucosamine*. Nature, 171: 252.
- SUTER, M. 1950. *Über Aminoalkohole*. Diss. philos. Fak. II. Univ. Zürich.
- VELDSTRA, H. 1956. *Synergism and Potentiation*. Pharmacol. Rev. 8: 339.
-

Trématodes et Cestodes récoltés en Côte d'Ivoire, avec remarques sur la famille des *Dicrocoeliidae* Odhner et sur les parasites des Damans

par

Jean G. BAER

Avec 14 figures dans le texte.

INTRODUCTION

Les Vers faisant l'objet de ce travail furent récoltés en partie par nous-même au cours d'un séjour que nous fîmes en compagnie de plusieurs de nos collègues, à Adiopodoumé. Nous y avons joint, en outre, quelques échantillons recueillis antérieurement soit par le Dr U. RAHM soit par le Dr V. AELLEN, ce dont nous les remercions.

La faune helminthologique de la Côte d'Ivoire est peu et mal connue, notamment celle des petits Mammifères, aussi ne doit-on pas s'étonner d'y rencontrer des genres qui n'ont pas été signalés jusqu'ici en Afrique au sud du Sahara. Cependant, la découverte, dans une Chauve-Souris, d'une espèce nouvelle de Trématode appartenant à un genre monotypique connu seulement en Amérique du Sud et dans le sud de l'Amérique du Nord, pose des problèmes zoogéographiques de grand intérêt.

Il ne faut, toutefois, pas perdre de vue que la recherche d'helminthes, lorsqu'on se trouve en brousse, n'est pas toujours facile si l'on n'est pas équipé spécialement à cette fin, car la plupart des non-helminthologistes ont leur attention attirée sur les plus grandes

formes et laissent échapper, sans le vouloir, les plus petites qui sont aussi, souvent, les plus intéressantes. Nous ne voudrions en aucune façon décourager les zoologistes qui auraient l'occasion de récolter des parasites, mais pensons leur rendre service en attirant leur attention sur ce point.¹

TRÉMATODES

Famille **Dicrocoeliidae** Odhner, 1910

Sous-famille DICROCOELIINAE Looss, 1899

Lyperosomum africanum n.sp.

Matériel: Cinq exemplaires dans la vésicule biliaire de *Praomys tullbergi* Thomas, récolté à Adiopodoumé (12.1.57).

Fréquence: Un seul exemplaire parasité sur deux examinés.

Les Vers ont 5 à 7 mm de long et 800 à 900 μ de large. La ventouse ventrale mesure 251 à 274 μ sur 229 à 274 μ ; elle est donc circulaire à ovalaire. La ventouse buccale, ovalaire, mesure 183 à 228 μ sur 160 à 202 μ . Le rapport entre les deux ventouses étant de 1:1,2.

Le pharynx a 100 à 114 μ de long et 87 à 91 μ de diamètre. On observe un assez long œsophage, les diverticules intestinaux atteignant l'extrémité postérieure du Ver.

L'ovaire est situé en avant du milieu du corps et se trouve séparé du testicule postérieur par au moins trois boucles de l'utérus. Il existe un assez gros réceptacle séminal, situé en arrière de l'ovaire. Les deux testicules sont séparés l'un de l'autre par quelques boucles utérines; ils sont plus gros que l'ovaire et le testicule postérieur est lobé tandis que l'antérieur est assez régulièrement arrondi. On trouve plusieurs boucles de l'utérus entre le testicule antérieur et le bord postérieur de la ventouse ventrale. La poche du cirre, longue de 227 à 260 μ , mesure 68 μ de diamètre. Lorsque le cirre est évaginé, la poche ne mesure plus que 206 μ de long et 82 μ de diamètre, le cirre ayant 183 μ de long. Le pore sexuel se trouve à mi-distance entre le bord postérieur du pharynx et la bifurcation

¹ Voir aussi: *How to collect parasites* in Premier Symposium sur la spécificité parasitaire des parasites de Vertébrés, p. 318-324, Neuchâtel, 1957.

de l'intestin. L'utérus est compris, en entier, entre les deux branches intestinales et présente l'aspect caractéristique pour le genre. Les œufs ont $34\ \mu$ sur $16\ \mu$ là où la coque est brun foncé, c'est-à-dire, dans la dernière portion de l'utérus. Les glandes vitellogènes s'étendent latéralement depuis le bord postérieur de l'ovaire jusque dans le dernier quart du corps.

TRAVASSOS (1944) a procédé à une révision de la famille *Dicrocoeliidae* Odhner, 1910 et, plus particulièrement, de la sous-famille *Dicrocoeliinae* Looss, 1899. Cette dernière sous-famille reçoit vingt et un genres et six sous-genres. Nous reconnaissons qu'il est très difficile de déterminer de façon précise la limite des genres dans un groupe comme celui-ci, surtout lorsqu'ils ont été établis sur un petit nombre d'individus ou sur quelques espèces seulement. Le résultat est, inévitablement, arbitraire, et par conséquent, sujet à être modifié dans le sens d'une simplification lorsque un nombre suffisant d'espèces aura été étudié. La variabilité individuelle paraît beaucoup plus étendue chez les *Dicrocoeliidae* que chez les autres familles de Trématodes. A titre d'exemple, nous reproduisons quelques « types » de *Platynosomum soricis* (Diesing, 1850) ¹ provenant d'une seule vésicule biliaire de Musaraigne. Nous avons, en effet, récolté une cinquantaine d'exemplaires dans une vésicule biliaire de *Crocidura russula* Herm. et, suivant l'état de contraction des Vers, la taille et l'âge de l'infestation (il y en avait au moins deux successives), ces spécimens pourraient être groupés dans les genres *Platynosomum Zonorchis* et *Lyperosomum* (fig. 3).

C'est pour cette raison que nous jugeons qu'il est nécessaire de réduire en synonymie un certain nombre de genres et de sous-genres admis par TRAVASSOS, tout en reconnaissant que le résultat est encore loin d'être satisfaisant.

Nous proposons, par conséquent, de conserver les genres suivants: *Dicrocoelium* Dujardin, 1845 (avec les sous-genres *Dicrocoelium* (= *Pseudathesmia* Travassos, 1942) ², *Controrchis* Price, 1929,

¹ Cette espèce avait été placée dans le genre *Dicrocoelium* par DOLLFUS, CALLOT et DESPORTES (1934) et nous l'avons redécrite et figurée sous ce nom (JOYEUX et BAER, 1936). Un nouvel examen de matériaux récents vient confirmer l'hypothèse émise par TRAVASSOS (*loc. cit.* : 40) à savoir que cette espèce doit rentrer dans le genre *Platynosomum* à cause de la longueur des diverticules de l'intestin et la position du pore sexuel.

² *Pseudathesmia* est manifestement une anomalie de *Dicrocoelium*, les vitellogènes étant atrophiés d'un côté du corps.

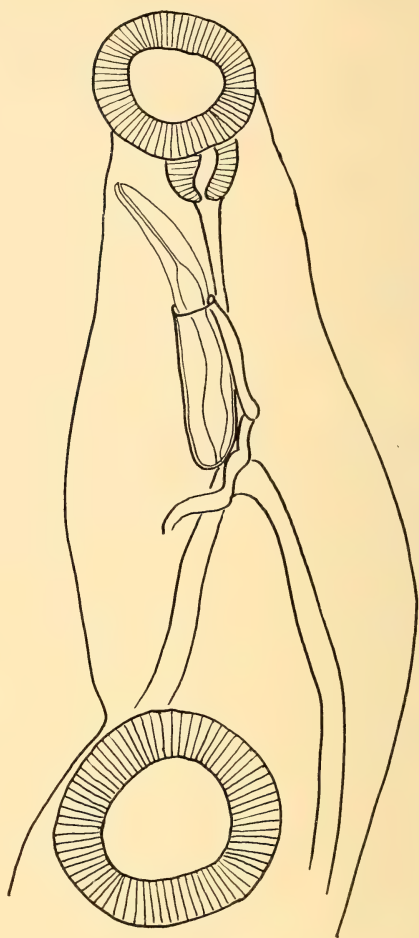
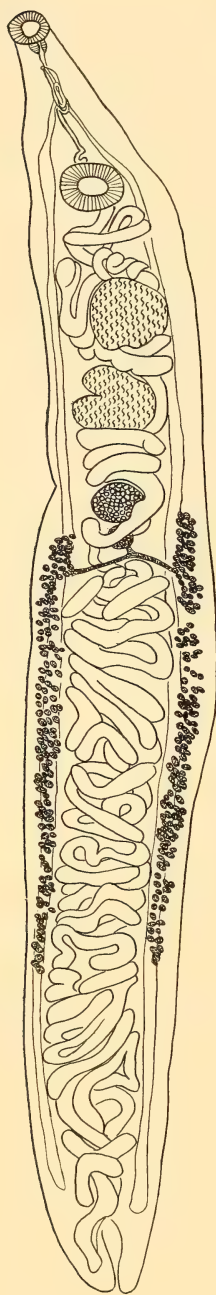


FIG. 2. — *Lyperosomum africanum* n.sp.
Région antérieure du Ver
avec le cirre évaginé.

FIG. 1. — *Lyperosomum africanum* n.sp.
Ver entier.

et *Metadelphis* Travassos, 1944); *Eurytrema* Looss, 1907 (= *Brodenia* Gedoelst, 1913, *Lubens* Travassos, 1919, *Conspicuum* Bhalerao, 1926, *Skrjabinus* Bhalerao, 1926, *Concinnum* Bhalerao, 1936, *Canaania* Travassos, 1944); *Leipertrema*¹ Sandosham, 1951; *Platynotrema* Nicoll, 1915 (= *Euparadistomum* Tubangui, 1931); *Platynosomum* Looss, 1907 (= *Zonorchis* Travassos, 1944); *Lyperosomum* Looss, 1899 (= *Corriga* Strom, 1940, *Orthorchis* Travassos, 1944); *Proacetabulorchis* Gogate, 1940; *Lutztrema* Travassos, 1941 (= *Olsoniella* Travassos, 1944, *Brachydistomum* Travassos, 1944); *Dictyonograptus* Travassos, 1919; *Athesmia* Looss, 1899; *Paradistomum* Kossack, 1910 (= *Paradistomoides* Travassos, 1944).

En réunissant au genre *Lyperosomum* le genre *Corriga*, comme nous le proposons, nous nous trouvons en présence de vingt-quatre espèces. Sur ce nombre, TRAVASSOS (*loc. cit.*: 129) en fait tomber sept en synonymie avec *L. longicauda* (Rud. 1809). Nous pensons, en outre, que les espèces *L. petiolatum* (Railliet, 1901), *L. kalminskensis* (Skrjabin et Issait., 1927) et *L. clathratum* (Deslongschamps, 1824) devraient être transférées dans le genre *Platynosomum*, à cause de la position des testicules qui se trouve presque sur le même plan horizontal.

Il reste donc quatorze espèces parmi lesquelles on constate une très grande similitude, sinon une identité, entre *L. pleistosomum* (v. Linst. 1883) et *L. papabejani* Skrjabin et Udinzer, 1930, toutes deux hébergées par des Perdrix, l'une en Arménie et l'autre au Turkestan russe. *L. lari* Travassos, 1917, et *L. oswaldoi* (Travassos, 1919) nous paraissent identiques, malgré que la première de ces espèces provienne d'une Mouette² et que la seconde habite les voies biliaires d'un grand nombre de Passereaux.

Sur les douze espèces qui demeurent ainsi dans le genre *Lyperosomum*, une seule, *L. vitta* (Dujardin, 1845) a été signalée chez les Mammifères et, en particulier, chez *Apodemus* et chez *Cleithronomys*, en Europe. Aucune espèce ne semble avoir été signalée, jusqu'ici,

¹ Ce genre, parasite de l'Orang-Outan, ne diffère d'*Eurytrema* que par le groupement des vitellogènes en arrière de l'ovaire.

² Il peut paraître curieux que des Trématodes dont le cycle paraît aussi adapté à la vie terrestre que celui des *Dicrocoeliidae*, puissent se rencontrer chez des Oiseaux marins. Il s'agit, sans doute, d'une infestation fortuite contractée sur terre. Si l'identité des deux espèces vient à être prouvée, il vaut la peine de faire remarquer que ces parasites habitent les voies pancréatiques chez les Mouettes et les voies biliaires de nombreuses espèces de Passereaux.

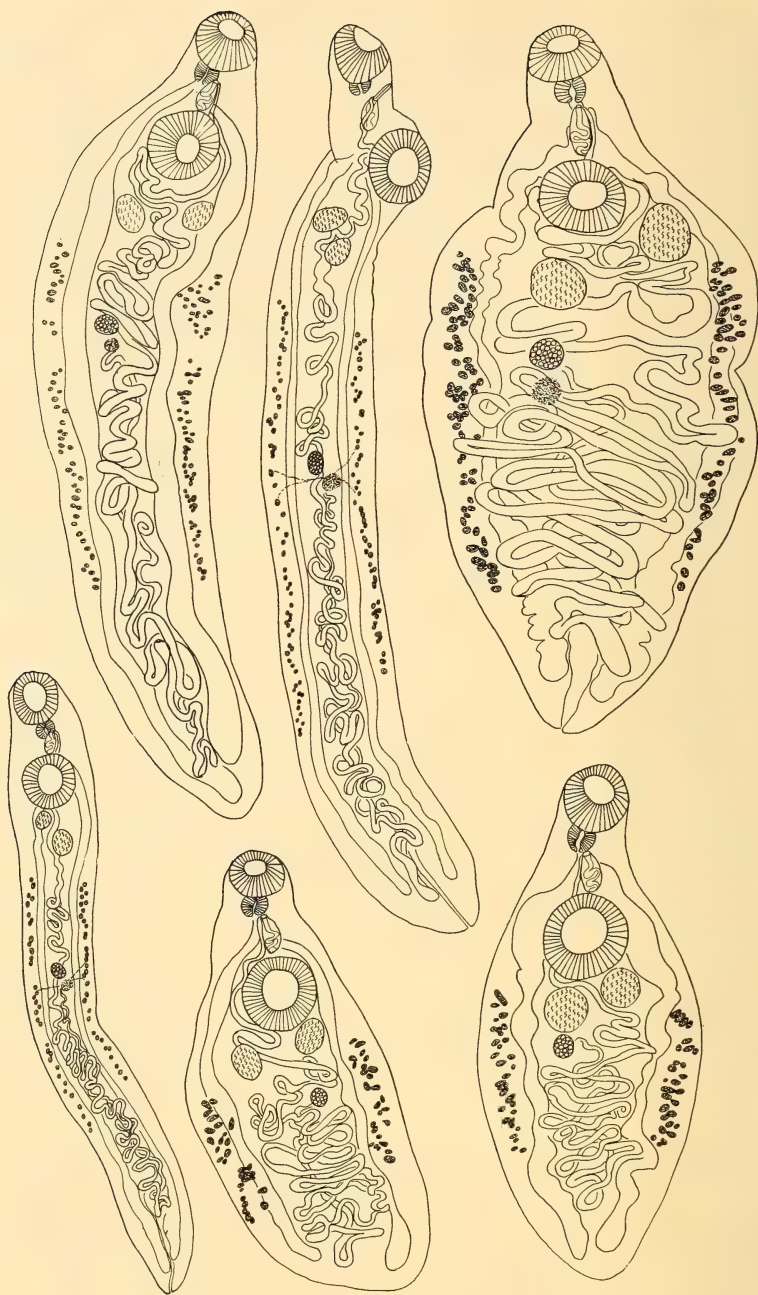


FIG. 3. — *Platynosomum soricis* (Diesing, 1850) de *Crocidura russula* Herm.

Six exemplaires trouvés dans une même vésicule biliaire, dessinés à la même échelle. La variation des rapports des organes est visible et l'on peut y reconnaître les caractères attribués aux genres *Platynosomum*, *Zonorchis* et *Lyperosomum*.

en Afrique et, au demeurant, toutes les autres espèces sont des parasites d'Oiseaux. Ce sont:

En Eurasie:

- L. longicauda* (Rudolphi, 1809) chez les Corvidés et Passeres.
- L. fringillae* Layman, 1923, chez le Pinson en Russie.
- L. corrigea* (Braun, 1901) et *L. plesiostomum* (v. Linstow, 1883) chez les Galliformes au Turkestan.
- L. pawlowskyi* (Strom, 1928) chez *Crex crex* et *Dendrocopus* (?) en Russie.

En Amérique du Sud:

- L. sinuosum* Travassos, 1917, chez un Ardeïd au Brésil.
- L. oswaldoi* (Travassos, 1919) chez des Passeres au Brésil.
- L. direptum* Nicoll, 1914, chez *Crax alector* en Guyane britannique.

En Nouvelle Guinée:

- L. porrectum* (Braun, 1899) chez un Alcédinidé.

A Formose:

- L. urocissae* Yamaguti, 1939, chez *Urocissa*.

Iles de la Sonde:

- L. scitulum* Nicoll, 1914, chez un Perroquet mort au jardin zoologique de Londres.

Il n'y a aucun doute que *L. africanum* n. sp. se rapproche le plus de *L. vitta*. Ce sont les deux seules espèces observées chez les Rongeurs. *L. vitta* est cependant plus grand (10-15 mm) et les ventouses sont également plus grandes; leur rapport étant de 1: 1,13. Chez *L. vitta*, l'ovaire est séparé du testicule postérieur par au moins sept boucles utérines tandis qu'il n'y en a pas plus de quatre chez *L. africanum* n.sp. Enfin, les œufs de notre nouvelle espèce sont plus petits que ceux de *L. vitta* (38 μ /23 μ).

Il est probable que la recherche méthodique d'helminthes chez les petits Mammifères d'Afrique réservera encore bien des découvertes intéressantes. Mais il est essentiel que le matériel soit aussi frais que possible et fixé dans de bonnes conditions. De telles recherches ne sauraient être livrées au hasard, comme c'est le plus sou-

vent le cas, mais devraient faire l'objet de recherches à la fois du point de vue statistique et du point de vue écologique.

Sous-famille MESOCOELIINAE Dollfus, 1929

Mesocoelium monodi Dollfus, 1929

Matériel: Nombreux échantillons récoltés par le Dr V. Aellen chez *Mabuya* sp. à Duékoué (15.3.53).

Cette espèce, dont la variabilité est tellement grande (SZIDAT, 1932) ne paraît pas inféodée à des hôtes particuliers. Elle est signalée, au Congo Belge, chez *Rana mascareniensis* Günth. et chez *Bufo regularis* Reuss, au Caméroutn, chez *Chamaeleon gracilis* Hallowell et au Liberia, chez les deux Amphibiens mentionnés ainsi que chez *Agama colonorum* Daud., *Lygosoma fernandi* Bust et *Mabuya maculilabris* F. Müll. Par conséquent, sa présence en Côte d'Ivoire devenait presque inévitable.

Superfamille **Strigeides** Dubois, 1936

Famille **Diplostomatidae** Poirier, 1886

Sous-famille DIPLOSTOMATINAE Monticelli, 1888

Diplostomum (Tyloodelphys) marahoueense n.sp.

Matériel: Plusieurs centaines de spécimens récoltés dans le premier tiers de l'intestin d'une Chouette pêcheuse, *Scotopelia peli* Bonap., tirée au bord du Marahoué, dans la région de Mankono (6.1.57).

Les Vers ont 1,3 à 1,5 mm de long et proviennent sans doute de plusieurs infestations successives puisque nous avons observé, à côté des exemplaires adultes, ovigères, des métacercaires sexuées (fig. 4). La longueur du segment antérieur varie de 845 μ à 910 μ et celle du segment postérieur, de 455 μ à 585 μ . Toute la surface dorsale, jusqu'à la limite entre les deux segments, est recouverte de minuscules épines. Les Vers étaient vivants au moment de la fixation et sont morts en bonne extension, mais avec l'axe longitudinal du corps cintré du côté dorsal (fig. 5). La ventouse buccale, arrondie à ovale, mesure 110 à 119 μ sur 100 à 110 μ . Elle est

flanquée de chaque côté de deux pseudoventouses longues de 165 à 183 μ . Le pharynx a 69 à 105 μ de long et 46 à 82 μ de diamètre. La ventouse ventrale, ovale dans le sens transversal, mesure 96 à 128 μ sur 55 à 78 μ . Elle est située légèrement en avant du milieu du segment antérieur et à 190 μ environ du bord antérieur de l'organe tribocytique. Celui-ci est ovoïde; il a 137 μ de long et 90 μ de large et s'ouvre par une fente longitudinale, médiane.

L'ovaire, situé à la limite de séparation des deux segments, mais dans le segment postérieur, est ovoïde et mesure 80 à 90 μ sur 57 à 68 μ . Ces dimensions, prises sur des coupes sagittales, sont en réalité trop faibles, puisque, dans les préparations totales, l'ovaire a 114 μ de long et 80 μ de diamètre. Le testicule antérieur allongé dans le sens dorso-ventral, a 159 μ de long. Il est asymétrique par rapport au testicule postérieur. Ce dernier, en effet, est fortement bilobé, les lobes étant dirigés caudalement. Dans les exemplaires jeunes on voit que les deux lobes sont réunis par un pont (fig. 4). Il existe une volumineuse vésicule séminale, allongée et repliée sur elle-même, qui vient déboucher dans un canal éjaculateur, musculéux, s'ouvrant dans le canal hermaphrodite qui traverse le cône génital (fig. 7 B et C). L'utérus ne paraît pas très long et renferme de gros œufs qui ont 87 à 91 μ de long sur 50 μ de diamètre. Le métraterme vient déboucher dans l'axe du cône génital. Celui-ci

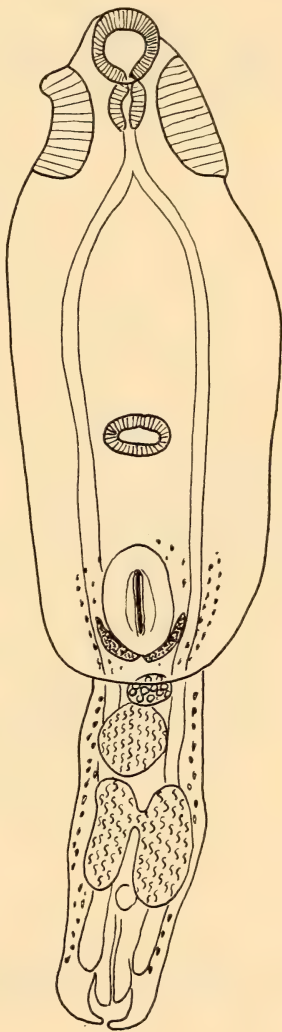


FIG. 4. — *Diplostomum* (*Tylodelphys*) *marahoueense* n.sp.
Métacercaire sexuée provenant, sans doute, d'une deuxième infestation.

segment postérieur, les follicules sont distribués à la face ventrale et s'étendent, latéralement, dans la région de la bourse copulatrice. Il existe un réservoir vitellin situé entre les deux testicules.



FIG. 6. — *Diplostomum (Tylodelphys) marahoueense* n.sp.

Deux exemplaires adultes montrant la distribution des follicules vitello-gènes et la position relative des organes.

Les échantillons décrits ci-dessus doivent être classés dans la sous-famille *Diplostomatinae* Monticelli et, plus spécialement, dans la sous sous-famille *Diplostomatini* Dubois, vu que les follicules vitello-gènes sont répartis dans les deux segments du corps

(cf. DUBOIS, 1953). Il est possible de reconnaître deux groupes de genres suivant qu'il existe des pseudoventouses ou non. La combinaison de caractères, pseudoventouses/cône génital, se rencontre chez *Adenodiplostomum* Dubois, 1937, *Glossodiplostomoides* Bhalerao, 1942 et chez *Tylodelphys* Diesing, 1850.

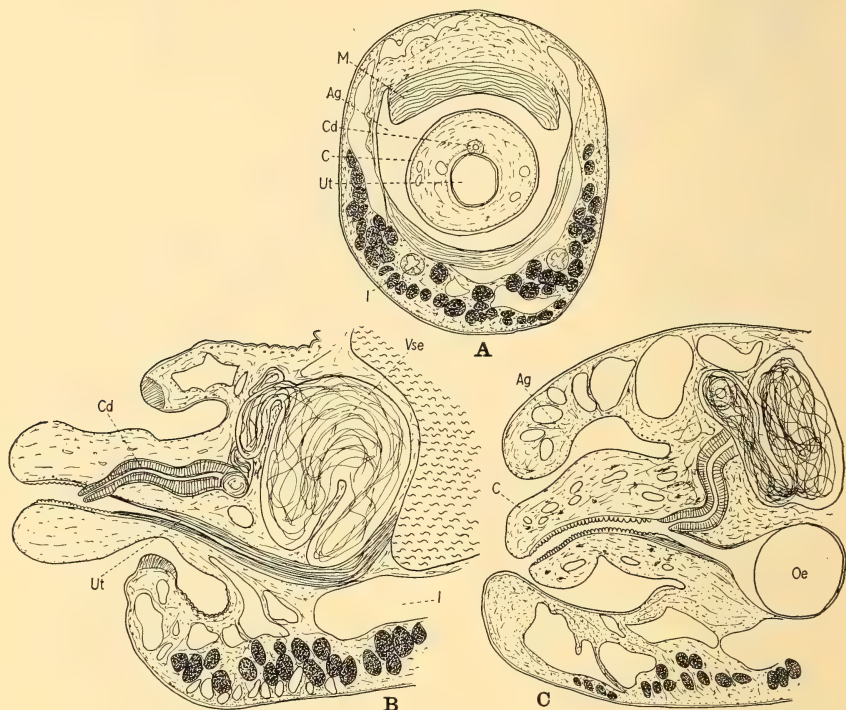


FIG. 7. — *Diplostomum (Tylodelphys) marahoueense* n.sp.

A — coupe transversale passant par l'atrium génital et le cône génital; B — coupe sagittale de l'atrium avec le cône génital évaginé; C — coupe sagittale de l'atrium avec le cône génital; Ag — atrium génital; C — cône génital; Cd — portion musculaire distale du canal éjaculateur; I — diverticule intestinal; M — muscle sphincter entourant le bord de l'atrium génital; Oe — œuf; Ut — utérus; Vse — vésicule séminale.

On peut éliminer le genre *Glossodiplostomoides* à cause de sa morphologie assez particulière et parce que les deux segments du corps ne sont pas nettement individualisés. Chez *Tylodelphys*, les deux testicules sont toujours symétriques et de taille semblable, tandis qu'ils sont asymétriques chez *Adenodiplostomum*, où le testi-

cule antérieur est plus petit que le postérieur et plus ou moins sphérique. Toutefois, dans ce genre, on trouve des glandes unicellulaires débouchant dans le voisinage de la ventouse ventrale et dont la fonction est indéterminée. On peut se demander s'il s'agit d'une erreur d'interprétation, car on observe de telles glandes dans le segment antérieur chez d'autres Diplostomes. Nous trouvons quelque chose de semblable dans nos échantillons, mais les glandes sont loin d'être aussi différenciées que ne les figure JOHNSTON (*vide* DUBOIS, 1938: 157, fig. 95).

DUBOIS (1953: 50) juge suffisant la symétrie ou l'asymétrie des testicules pour séparer les genres *Tylodelphys* et *Diplostomum*; le premier possédant un cône génital mais pas le second. Cependant, le même auteur a fait usage des caractères identiques dans le genre *Neodiplostomum* Railliet, 1919, qui ne possède pas de pseudo-ventouse, pour séparer deux sous-genres: *Neodiplostomum*, avec testicules asymétriques mais pas de cône génital, et *Conodiplostomum*, avec testicules symétriques et cône génital.

Dans le genre *Diplostomum*, dont les métacercaires sont connues, on les observe à l'intérieur de l'œil, dans le cristallin et l'humeur vitrée, chez un grand nombre d'espèces de Poissons d'eau douce. Chez *Tylodelphys*, la métacercaire de *T. clavata* se rencontre aussi dans l'humeur vitrée chez de nombreux Poissons et celle de *T. excavata* dans le canal rachidien de Grenouilles.

Par conséquent, nous ne voyons pas la nécessité de maintenir la séparation de ces deux genres et proposons de les ramener au rang de sous-genres en leur conservant les caractères qui leur sont attribués aujourd'hui. Le genre *Diplostomum* v. Nordmann, 1832, ayant la priorité, le sous-genre nominatif sera également *Diplostomum* v. Nordm. et le second sous-genre sera, par conséquent, *Tylodelphys* Diesing, 1850.

Les Vers décrits ci-dessus sont intermédiaires, par leur anatomie, entre les deux sous-genres *Diplostomum* et *Tylodelphys*. Ils possèdent l'asymétrie du testicule antérieur du premier et le cône génital du second. Nous estimons que ce dernier caractère est le plus important et rangeons notre nouvelle espèce dans le sous-genre *Tylodelphys*, où elle se distingue des cinq autres espèces attribuées à ce sous-genre, par l'asymétrie du testicule antérieur. Récemment, DUBOIS et FAIN (1956) ont observé la présence, au Ruanda-Urundi, chez *Buteo rufofuscus augur* Rüpp. de *Diplostomum* (*Tylodelphys*) *cla-*

vata (v. Nordm.), une espèce qui n'avait été signalée jusqu'ici, qu'en Europe chez *Circus aeruginosus* (L.) et *Ardea cinerea* L. Toutefois, ces Oiseaux étant migrateurs, ont pu, très vraisemblablement, transporter leurs parasites qui ont trouvé, en Afrique, les conditions indispensables au développement des formes larvaires.

Superfamille **Cyathocotylidea** Dubois, 1936

Famille **Cyathocotylidea** Poche, 1925

Sous-famille PROHEMISTOMATINAE Lutz, 1935

Mesostephanus dottrensi n.sp.

Matériel: En petit nombre dans le premier tiers de l'intestin de *Scotopelia peli* Bonap. en compagnie de l'espèce précédente (même hôte et même localité).

Nous nous faisons un plaisir de dédier cette nouvelle espèce à notre collègue et ami le Dr E. DOTTRENS, directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève, en souvenir des expéditions de chasse que nous fîmes ensemble dans la brousse.

Une vingtaine d'exemplaires, seulement, ont été recueillis sur place, mais leur nombre était certainement plus élevé car nous n'avons pas pu prélever la totalité des spécimens des deux espèces, faute de temps.

Les Vers ont 685 à 780 μ de long et 310 à 325 μ de large à l'endroit où le corps atteint sa plus grande largeur, soit au niveau du testicule antérieur. Tous nos spécimens, fixés vivants au formol à 5% en les agitant vivement, sont bien étendus, mais l'extrémité antérieure du corps est légèrement repliée vers la face ventrale. La cuticule est recouverte d'un revêtement de très fines écailles formant un dessin quadrillé très caractéristique. Il existe, en outre, à la face dorsale du Ver, une série de petites glandes à contenu granulaire qui y débouchent individuellement. Elles sont disposées par rangées longitudinales et de façon plus ou moins symétrique (fig. 8), mais ne s'étendent pas, en arrière, au-delà du niveau du testicule antérieur. C'est la première fois, à notre connaissance, que de telles glandes sont observées dans ce groupe de Trématodes et l'on peut se demander quel rôle elles jouent du moment qu'elles débouchent à la face dorsale du Ver.

La ventouse buccale a 45 à 48 μ de diamètre et un pharynx lui fait suite, généralement allongé, mesurant 45 μ sur 30 μ . Les deux branches de l'intestin s'étendent jusque dans l'extrémité postérieure du corps. La ventouse ventrale est faiblement déve-

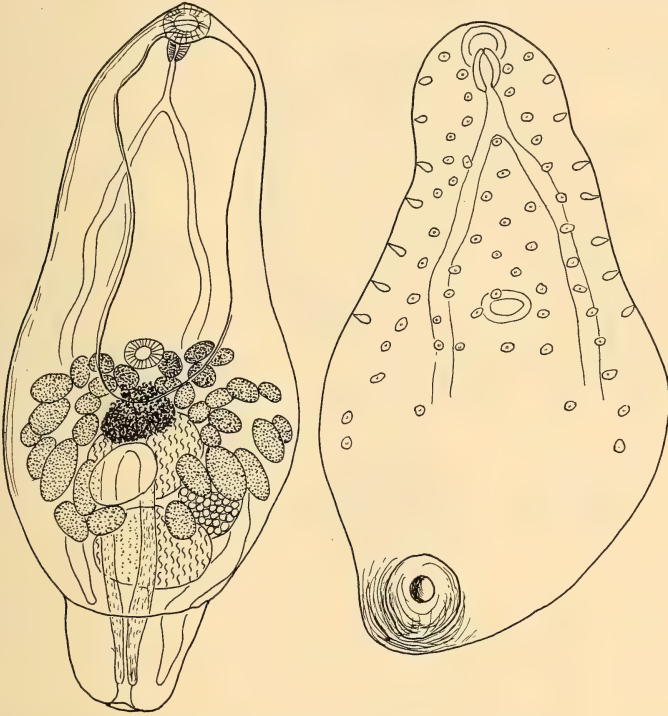


FIG. 8. — *Mesostephanus dottrensi* n.sp.

Deux échantillons vus, respectivement, par la face ventrale (à gauche) et par la face dorsale (à droite), montrant l'anatomie et les dispositions des glandes dorsales.

loppée et, souvent, difficilement visible; elle mesure 45 μ de diamètre. L'organe tribocytique se trouve en arrière de la ventouse ventrale, il mesure 34 μ de long et s'ouvre par une fente longitudinale. L'ovaire a 90 μ de diamètre et se trouve entre les deux testicules dont l'antérieur mesure 102 μ dans son plus grand diamètre et le testicule postérieur, plus grand, 136 μ sur 91 μ . La poche du cirre a 227 μ de long sur 27 μ de diamètre; elle débouche dans un atrium génital sub-dorsal où aboutit, également, à la face dorsale, le vagin

muni d'un puissant muscle sphincter (fig. 9). L'utérus ne renferme jamais plus de trois œufs, rarement quatre, de grande taille, $91\ \mu$ sur $59\ \mu$. Les follicules vitellogènes, relativement très gros, sont disposés en fer-à-cheval autour de la ventouse ventrale, englobant l'organe tribocytique entre les deux branches postérieures.

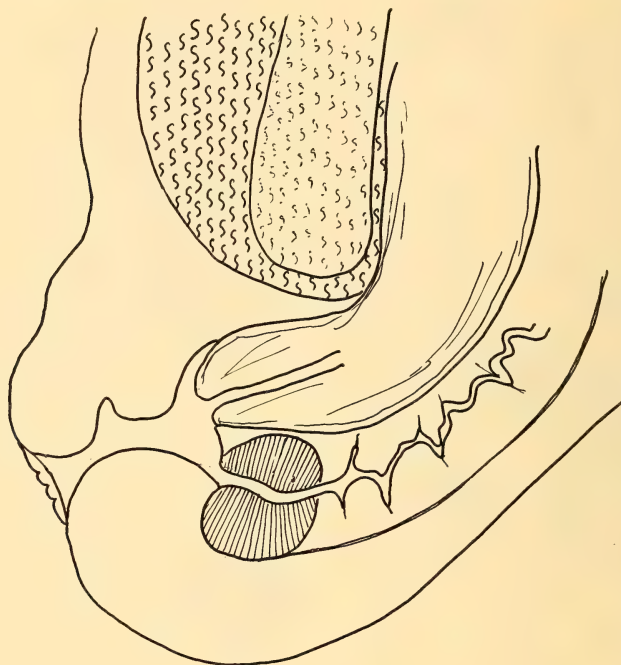


FIG. 9. — *Mesostephanus dottrensi* n.sp.

Vue sagittale de l'atrium génital montrant le volumineux muscle sphincter entourant le métraterme.

En dépit de la présence de glandes situées à la face dorsale du corps, l'anatomie ainsi que la morphologie générale de nos échantillons correspondent à celles du genre *Mesostephanus* Lutz, 1935, dont la présence en Afrique est nouvelle.

Des six espèces qui sont rangées, actuellement, dans ce genre (*vide* DUBOIS, 1953: 108), trois, à savoir *M. fajardensis* (Price), *M. appendiculatoides* (Price) et *M. cubanensis* Viguera se rencontrent chez des Stéganopodes, aux Antilles, ainsi qu'au Brésil. A ces espèces il faudrait peut-être ajouter encore *M. haliasturis* Tub. si, comme le suppose DUBOIS, il y a eu erreur d'étiquette, car

cette espèce décrite à l'origine chez un Accipitre, serait probablement un parasite de Frégate !

Quant aux deux dernières espèces, *M. appendiculatus* (Ciurea) et *M. texensis* Chandler, elles ont été signalées, l'une et l'autre, chez le Chien, la première en Europe centrale, en Ukraine et aux Etats-Unis et la seconde, aux Etats-Unis seulement.

Aucune des descriptions ne mentionne la présence de glandes dorsales, mais il est possible que celles-ci aient passé inaperçues car elles s'observent difficilement.

Nos échantillons se rapprochent le plus de *M. appendiculatus*, parasite du Chien. Mais il est certain que cet hôte ne représente qu'un hôte accidentel et que c'est parmi les Carnivores sauvages, Mammifères ou Oiseaux, qu'il faudrait chercher l'hôte normal. Notre nouvelle espèce est constamment plus petite dans toutes ses dimensions, sauf pour celles des œufs, que *M. appendiculatus*. Seule une meilleure connaissance de la faune strigéidienne africaine fournirait les points de repères nécessaires pour l'évaluation spécifique des échantillons.

Famille **Urotrematidae** Poche, 1926

Urotrema aelleni n.sp.

Matériel: Nombreux échantillons récoltés chez *Pipistrellus nanus* Peters à Adiopodoumé (10.6.53) (V. AELLEN leg.).

Les Vers ont 1,5 à 2 mm de long et 260 μ à 340 μ de large. Toute la cuticule de la région antérieure est recouverte de minuscules écailles qui apparaissent, en coupe optique, telles des épines. Les deux ventouses sont de taille inégale, la ventouse buccale mesurant 100 à 136 μ de diamètre et la ventouse ventrale, 96 à 128 μ . Il existe un très court prépharynx suivi d'un pharynx long de 46 à 55 μ avec un diamètre de 46 à 50 μ . Les deux diverticules de l'intestin s'étendent jusqu'à l'extrémité postérieure du Ver.

Beaucoup des spécimens examinés ne sont pas encore adultes, cependant les rapports des organes entre eux ne subissent pas de variations très notables. L'ovaire est situé en arrière de la ventouse ventrale et à une distance de celle-ci qui varie de 137 μ à 183 μ . Il est séparé du testicule antérieur par une distance de 320 μ à 457 μ . Les deux testicules, situés dans le quart postérieur du corps,

sont elliptiques, à grand axe transversal dans les exemplaires jeunes, mais sphériques dans les exemplaires adultes avec utérus rempli d'œufs. Les deux testicules sont toujours en contact l'un avec l'autre sans qu'il soit possible de trouver des exceptions. La poche du cirre, longue de 137 à 274 μ sur 46 à 91 μ de diamètre, renferme une grosse vésicule séminale, repliée sur elle-même. Le pore sexuel est sub-terminal. L'utérus occupe toute la région située entre l'ovaire et les testicules, entoure ces derniers et passe, ventralement, entre les deux testicules (fig. 10). Les œufs, à coque épaisse, mesurent 18 à 19 μ sur 11 μ . Les glandes vitellogènes s'étendent, de chaque côté, depuis le bord postérieur de la ventouse ventrale, ou entre celle-ci et l'ovaire, jusqu'au bord antérieur du testicule antérieur.

La présence du genre *Urotrema* Braun, 1900 (= *Urotrematulum* Macy, 1933) chez une Chauve-souris africaine présente un très grand intérêt parce que les autres espèces, attribuées à ce genre, proviennent de Chiroptères américains. CABALLERO (1942) a fait la revision de ces espèces qu'il ramène à une seule, *U. scabridum* Braun, 1900, signalée chez des Chauves-souris au Brésil, en Amérique centrale ainsi qu'aux Etats-Unis, appartenant aux espèces suivantes: *Molossidae*: *Molossus centralis* (Gervais), *M. nigricans* Miller, *Tadaridia brasiliensis* (Geoff.); *Vespertilionidae*: *Lasiurus borealis* (Müll.), *Lasionycteris noctivagus* (Le Conte), *Eptesicus fuscus* (Beauvois), *Myotis lucifugus* (Le Conte), *Nycticeius humeralis* (Rafin.); *Natalidae*: *Natalus mexicanus* Miller. Enfin, un seul exemplaire a été trouvé chez un Rat musqué, *Ondatra zibethica* (L.), hôte accidentel puisqu'il n'a plus jamais été signalé porteur de ce Trématode (PRICE, 1931) ¹.

Urotrema aelleni n.sp. se rapproche beaucoup, par son anatomie, de *U. scabridum*, mais est constamment plus petit, ainsi qu'il ressort du tableau comparatif suivant.

Chez *U. aelleni* n.sp. les deux testicules sont toujours en contact l'un avec l'autre et sont relativement plus volumineux que chez *U. scabridum* où ils sont nettement séparés l'un de l'autre. La poche du cirre ainsi que les œufs ont également des dimensions plus faibles chez l'espèce africaine.

¹ Une autre espèce, *U. wardi* Vigueras, 1940, serait hébergée par un Lézard, *Anolis porcatius*, à Cuba.

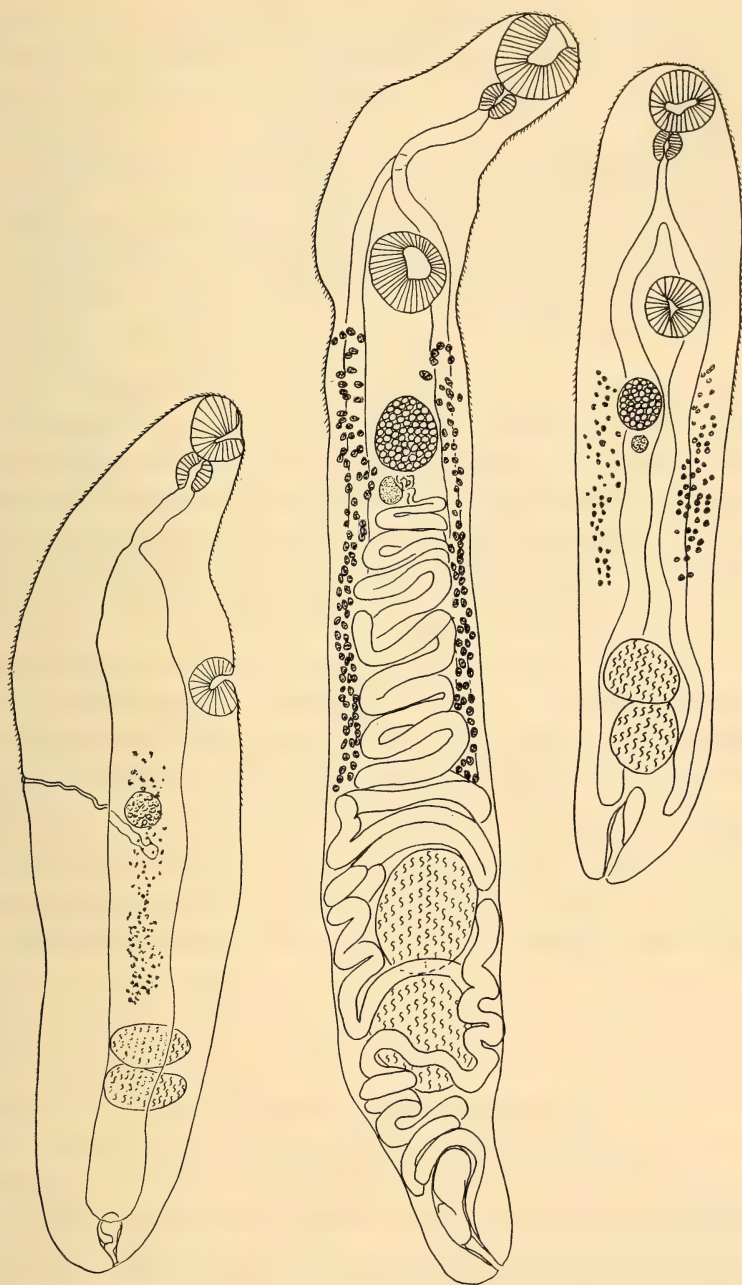


FIG. 10. — *Urotrema aelleni* n.sp.

Trois exemplaires à différents degrés de maturité sexuelle. A gauche, un individu jeune, de profil, montrant le canal de Laurer. Au centre, un individu gravide avec l'utérus rempli d'œufs. A droite, individu jeune, adulte, mais sans œufs dans l'utérus.

	<i>U. scabridum</i> Braun, 1900	<i>U. aelleni</i> n.sp.
Longueur	4,5-5,3 mm	1,5-2 mm
Largeur	594 μ	260-360 μ
Ventouse buccale	102-143/123-163	100-136
Ventouse ventrale	175-245/135-233	96-128
Pharynx	73-75/155-163	44-45/46-50
Poche du cirre	300-300/110-130	137-274/46-91
Ovaire	208-237/155-163	69-105
Testicules	séparés	en contact
Œufs	22-24/12-14	18-19/11

Nous considérons, par conséquent, que nos échantillons constituent une espèce autonome quoique voisine de *U. scabridum*. Des récoltes ultérieures permettront d'en confirmer la diagnose ou d'assimiler ces Trématodes à l'espèce sud-américaine. Il ne faut, en effet, pas perdre de vue que parmi les hôtes signalés pour *U. scabridum*, les genres *Eptesicus*, *Myotis*, *Pipistrellus*, *Nycticeius* ainsi que le genre *Tadarida* sont représentés, à la fois, par des espèces américaines et africaines.

Dernièrement, DUBOIS (1956: 693) a déterminé comme étant *U. scabridum* quelques exemplaires jeunes, récoltés par le Dr AELLEN chez *Myotis b. bocagei* (Peters), capturé par le Dr BINDER également à Adiopodoumé. Toutefois, ces exemplaires correspondent bien plus à *U. aelleni* n.sp. qu'à l'espèce sud-américaine, par les dimensions générales et les rapports des organes. Les dimensions des œufs, plus grandes, proviennent de ce que les exemplaires étant encore jeunes, l'ovogenèse ne faisait que débiter et les œufs ne possédaient pas encore la coque épaisse, indéformable des exemplaires plus âgés.

CESTODES

Famille **Davaineidae** Fuhrmann, 1907

Sous-famille DAVACHINEAE Braun, 1900

Raillietina (*Raillietina*) *baeri* Meggit et Subramanian, 1927

Matériel: Récolté chez *Mastomys coucha erythroleucus* (Temm.) à Adiopodoumé (12.1.57).

Fréquence: Ce Ténia semble caractéristique de *Mastomys coucha* et de ses sous-espèces chez lesquelles il a été signalé au Congo belge ainsi qu'au Dahomey et à Ghana.

Raillietina (Raillietina) calcaria (Fuhrmann, 1908)

Matériel: Récolté chez *Corythaeola cristata* (Vieill.) dans la galerie forestière de la haute Cavally (Guinée) (3.1.57).

Fréquence: Les deux exemplaires tirés hébergeaient chacun de nombreux exemplaires de cette espèce qui paraît, essentiellement, se rencontrer chez ce beau Musophagidé.

Nos échantillons ayant été fixés sur place encore vivants sont en bonne extension et nous avons pu vérifier les principales dimensions. Ils ont 160 mm de long avec une largeur maximum de 2 mm. Les strobilas contractés sont plus larges et plus courts. Le scolex avec rostre rétracté a 230 μ de diamètre et les ventouses, armées de 5 à 6 rangées de crochets, mesurent 113 à 125 μ sur 86 μ . Lorsque le rostre est évaginé et que les ventouses se détachent de la surface du scolex, ce dernier atteint une largeur de 320 μ . Le rostre est armé d'une double couronne de 275 à 300 crochets, longs de 16 à 17 μ . Le nombre des testicules est faible, 10 à 15 seulement, disposés de chaque côté des organes femelles, en deux groupes distincts. La poche du cirre, très puissante et à paroi épaisse, mesure 183 à 227 μ de long sur 67 à 69 μ de diamètre. Elle renferme un gros cirre dont la base est armée de grosses épines. Les capsules ovifères renferment, chacune, 5 à 7 œufs qui ont 34 μ de diamètre, renfermant une onchosphère de 16 μ de diamètre.

Nos échantillons diffèrent surtout par la taille de la poche du cirre des exemplaires décrits par FUHRMANN (1909) mais qui sont, d'après l'examen des types, assez fortement contractés et mal conservés. D'ailleurs, SOUTHWELL et LAKE (1939: 75) ont redécrit cette espèce sous le nom de *R. (P.) undulata* Fuhrmann chez *Corythaeola cristata* (Vieill.), également, au Congo Belge. D'après l'examen de leur matériel original et lecture de leur description, il ressort que ces auteurs ont eu sous les yeux *R. calcaria*, mais qu'ils ont repris une partie de la description de *R. undulata* qu'ils ont empruntée à la bibliographie, car tous leurs échantillons correspondent à la première et non à la seconde de ces deux espèces habitant le même hôte.

Inermicapsifer schoutedeni Ezzat, 1954

Matériel: Deux exemplaires complets récoltés encore vivants dans l'intestin de *Dendrohyrax dorsalis sylvestris* (Temm.) à Adiopodoumé (17.1.57).

Fréquence: Un seul « Ahua » examiné.

Les Vers ont 240 mm de long avec une largeur maximum de 2 mm. Le scolex a 585 μ de diamètre et chacune des ventouses

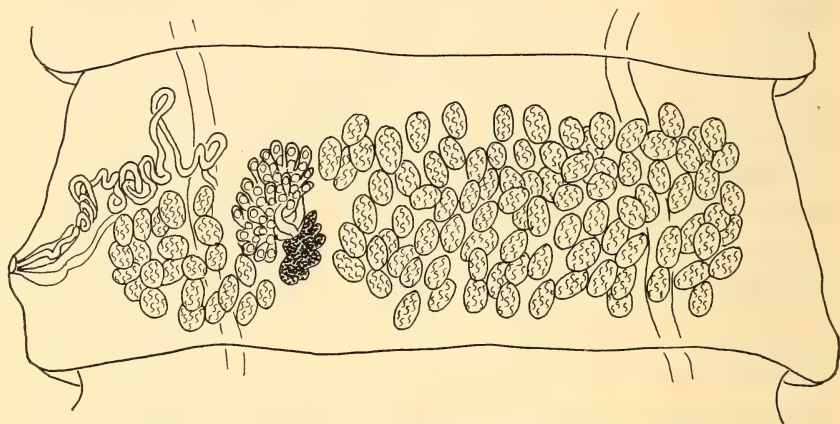


FIG. 11. — *Inermicapsifer schoutedeni* Ezzat, 1954.
Segment adulte.

circulaires mesure 260 à 227 μ sur 290 à 260 μ . Elles débouchent, comme chez toutes les espèces du genre, au fond d'une sorte d'entonnoir s'ouvrant à la surface du scolex. Les pores sexuels sont unilatéraux et se trouvent dans le dernier tiers du bord latéral du segment. Les glandes sexuelles femelles sont situées dans la moitié porale du segment et la portion distale du vagin est entourée de fibres musculaires très visibles. La poche du cirre a 114 μ de long sur 34 μ de diamètre et le canal déférent est fortement enroulé sur lui-même, décrivant de nombreux lacets avant d'y déboucher. Les testicules sont toujours répartis en deux groupes situés de part et d'autre des glandes sexuelles femelles. Le groupe poral, comprenant 20 à 25 testicules, se trouve toujours en arrière des lacets du canal déférent (fig. 11). Le groupe anti-poral est composé de 90 à 100 testicules mais qui n'empiètent jamais sur la zone située en avant de

l'ovaire. Il s'ensuit que le nombre total des testicules est de 110 à 125. Dans les anneaux gravides, il se trouve 120 à 150 capsules ovifères.

Cette espèce rentre dans le groupe *settii* d'après la clé publiée par JOYEUX et BAER (1949). Elle se distingue cependant de *I. settii* Janicki par le nombre beaucoup plus élevé des testicules.

EZZAT (1954) a trouvé *I. schoutedeni* chez quatre individus de *Dendrohyrax arboreus adolfifriederici* (Brauer), au Congo Belge. Notre matériel diffère peu de la description originale sinon que les Vers sont un peu moins longs. La longueur de 300 mm pour le matériel congolais provient sans doute de ce que les Vers ont été fixés après la mort de l'hôte, étant, eux-mêmes, déjà relâchés par la mort. On sait, d'ailleurs, que de grandes variations de longueur s'observent chez les espèces de ce genre, parasites des Procaviidés. En effet, EZZAT (*loc. cit.* : 171) signale avoir trouvé des spécimens qui n'avaient que 35 à 70 mm de long. Il est possible, cependant, que ceux-ci représentent une deuxième infestation, la première n'ayant pas conféré de prémunition à l'hôte.

Inermicapsifer pagenstecheri (Setti, 1897)

Matériel: Plusieurs exemplaires de petite taille récoltés chez *Procavia ruficeps oweni* Thom. à Duékoué par le Dr AELLEN (15.3.53).

Inermicapsifer hyracis (Rudolphi, 1810)

Matériel: Même hôte et même provenance que ci-dessus.

Considérations sur les parasites des Damans

On connaît actuellement de très nombreuses espèces de parasites tant externes qu'internes qui sont endémiques des Damans. En effet, l'isolement écologique de ces hôtes doit avoir contribué dans une large mesure à l'isolement consécutif de leurs parasites et, par conséquent, de leur spéciation.

Parmi les trois genres récents de Procaviidés, à savoir *Procavia* Storr, *Heterohyrax* Gray et *Dendrohyrax* Gray, le dernier paraît nettement ségrégué écologiquement. Quoique sa biologie ne soit pas

encore connue de façon précise et satisfaisante, ses habitudes arboricoles, l'absence d'endroits particuliers où sont déposés les déjections et sa nourriture, séparent le Daman des arbres des autres espèces. Au point de vue parasitaire, cet isolement apparaît très nettement de façon encore plus frappante qu'on aurait pu le supposer au premier abord.

Parmi les nombreuses espèces de Mallophages endémiques des Procaviidés, il n'en existe aucune qui se rencontre, à la fois, sur *Dendrohyrax* et sur les autres genres. C'est ainsi que le genre *Eurytrichodectes* Stobbe, 1913, est endémique de *Dendrohyrax* et que, sur les 30 espèces du genre *Procavicola* Bedford, 1932, 14 sont endémiques du même genre d'hôte. En outre, *Dendrohyrax* héberge 4 espèces sur les 14 décrites dans le genre *Dasyonyx* Bedford, 1932, et 3, sur 11 du genre *Procaviphilus* Bedford, 1932. Enfin, parmi les Poux, *Prolinognathus* Ewing, 1924, n'est trouvé que chez les Procaviidés, mais à l'exception de *Dendrohyrax*. Cette absence chez les Damans d'arbres serait due, selon HOPKINS (1949: 550) à ce que la population de Mallophages qui vit sur *Dendrohyrax* soit si dense qu'elle en ait éliminé les Poux proprement dits. Par conséquent, si l'absence du genre *Prolinognathus* de *Dendrohyrax* est bien due à des causes écologiques, ce ne serait pas l'isolement de l'hôte qui en est responsable, mais l'abondance de ses parasites qui se concurrenceraient ainsi mutuellement.

Parmi les six genres de Nématodes qui sont connus chez les Hyrocoïdes, quatre sont endémiques. Il est d'ailleurs probable que les espèces attribuées à deux des genres, à savoir: *Cobboldina hyracis* Ezzat et *Trichuris hyracis* Ezzat devront être placés dans des genres ou sous-genres indépendants. Les deux espèces mentionnées ainsi que *Dartevellenia collaris* Ezzat et *Hoplodontophorus obtusa* (Hempr. et Ehrenb.)¹, ne sont signalées que chez *Dendrohyrax*.

Les Nématodes des Procaviidés sont ainsi endémiques de ce groupe d'hôtes parmi lesquels *Dendrohyrax*, jusqu'à plus ample informé, possède ses espèces propres.

Aucun Trématode n'a encore été observé, à notre connaissance, chez les Procaviidés. A première vue cela paraît curieux lorsqu'on

¹ Il paraît moins que certain que cette espèce, redécrite par EZZAT (1954) corresponde à la variété trouvée par HEMPRICH et EHRENBURG chez *Procavia*.

constate l'existence d'une parenté très nette entre les parasites des Hyracoïdes et ceux des Perissodactyles ainsi qu'avec ceux des Rongeurs. Cependant, les Trématodes caractéristiques des Zèbres, Rhinocéros et Eléphants appartiennent à la famille des *Paramphistomidae* dont le cycle évolutif, pour autant qu'il est semblable dans tous les genres, aboutit à une métacercaire enkystée sur des plantes aquatiques. Cela impliquerait donc que ce biotope indispensable pour l'accomplissement du cycle soit également celui des Procaviidés. Or les Damans de rochers, comme aussi ceux de savane, fréquentent les endroits secs et même très secs, se contentant de la rosée du matin ou du soir pour satisfaire leur besoin en eau. Le Daman des arbres qui, lui, habite la grande forêt ou la forêt galerie, serait susceptible d'acquérir des Trématodes à condition de se nourrir au sol, ce qui ne paraît pas être le cas.

Les Cestodes des Procaviidés font apparaître l'existence de neuf espèces endémiques du genre *Inermicapsifer* Janicki, 1910, dont une seule, *I. schoutedeni* Ezzat, chez *Dendrohyrax*.

Anoplocephala spatula (v. Linstow, 1901) est la seule espèce de ce genre, caractéristique des Perissodactyles, qui soit connue jusqu'ici chez les Procaviidés des genres *Procavia* et *Heterohyrax*. Nous avons cru retrouver cette espèce chez *Dendrohyrax arboreus* (Smith), en Angola, mais un nouvel examen du matériel fait ressortir qu'il s'agit d'une espèce nouvelle, décrite ci-dessous.

On constate ainsi que, parmi les parasites endémiques des Procaviidés, le genre *Dendrohyrax* possède une faune parasitaire qui lui est propre. Les mammalogistes reconnaissent aujourd'hui trois espèces de *Dendrohyrax*, dont deux, *D. dorsalis* (Fraser) et *D. arboreus* (Smith) se rencontrent en Afrique centrale et occidentale, tandis que *D. validus* True ne vit qu'en Afrique orientale. *D. dorsalis* est subdivisée en 5 sous-espèces, *D. arboreus* en 8 sous-espèces et *D. validus* ne renferme que 4 sous-espèces correspondant, chacune, à un territoire déterminé.

Les parasites de *Dendrohyrax* ne sont pas fréquents dans les collections et il vaudrait la peine d'en récolter de façon systématique afin de vérifier si réellement cet hôte héberge des espèces endémiques distinctes de celles des autres Procaviidés, ainsi que cela semble être le cas, qui s'expliquerait du fait de l'isolement écologique de *Dendrohyrax* par rapport aux deux autres genres.

Famille **Anoplocephalidae** Fuhrmann, 1907

Sous-famille ANOPLOCEPHALINAE Fuhrmann, 1907

Anoplocephala dendrohyracis n.sp.

Matériel: Récolté chez *Dendrohyrax arboreus* (Smith), provenant de la galerie forestière des sources du Cuilo (Angola), par le Dr A. DE BARROS-MACHADO (10.8.54).

Fréquence: Nombreux exemplaires chez un seul hôte.

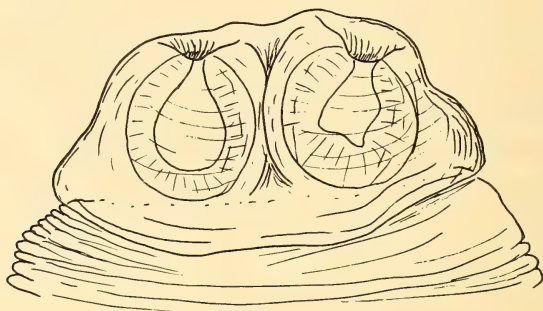


FIG. 12. — *Anoplocephala dendrohyracis* n.sp.
Scolex.

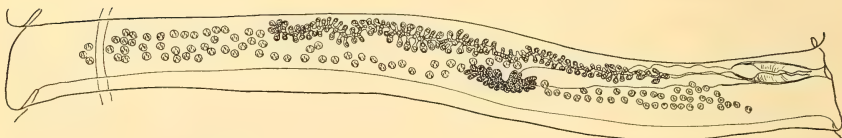


FIG. 13. — *Anoplocephala dendrohyracis* n.sp.
Segment adulte.

Les échantillons, relativement peu contractés, ont 46 à 68 mm de long et atteignent une largeur maximum de 13 mm. La largeur du scolex varie de 823 μ à 1 mm et les ventouses, circulaires, ont un diamètre de 389 à 413 μ . Le bord postérieur du scolex recouvre la première portion du strobila. Les pores sexuels sont unilatéraux et la poche du cirre mesure 503 μ à 1,2 mm de long sur 114 à 214 μ de diamètre; le cirre est armé d'épines et une vésicule séminale interne

se trouve dans la partie proximale de la poche du cirre. Il y a 120 à 140 testicules, répartis de chaque côté de l'ovaire, dépassant le vaisseau excréteur ventral du côté anti-poral. L'ovaire est formé de deux ailes inégales, l'aile porale étant plus courte que l'anti-porale. L'utérus est gravide dans les trois-quarts postérieurs du strobila. Les œufs ont 41 à 45 μ de diamètre et renferment un embryon hexacanthé de 17 à 22 μ de diamètre, muni d'un appareil piriforme.

A. dendrohyracis n. sp. est très voisin de *A. spatula* (v. Linst.) mais s'en distingue, cependant, par le nombre des testicules qui est de 120 à 140 chez la première et de 200 et davantage, chez la seconde. Les dimensions de la poche du cirre ne sont pas les mêmes, non plus, ni celles des œufs dont l'embryon hexacanthé est plus grand, 17 à 22 μ contre 9 μ seulement chez *A. spatula*.

Famille **Hymenolepididae** Fuhrmann, 1907

Sous-famille HYMENOLEPIDINAE Perrier, 1897

Hymenolepis dodecacantha Baer, 1925

Matériel: *Crocidura* spp. (nos 246, 283, 544) récoltés par le Dr AELLEN à Adiopodoumé (16.4.53, 20.4.53, 24.6.53).

Fréquence: Plusieurs échantillons chez chacun des hôtes.

Nos exemplaires ont 25 à 30 mm de long et 550 à 730 μ de large. Le scolex a un diamètre de 137 à 228 μ et les ventouses, circulaires, mesurent chacune 56 à 72 μ . Le rostre a 56 à 79 μ de diamètre; il porte une seule couronne de 12 à 16 crochets, longs de 31 à 34 μ . La garde du crochet est aplatie, ce qui lui confère un aspect très caractéristique (fig. 14). La poche du cirre a 90 à 100 μ de long sur 23 à 27 μ de diamètre. Les testicules sont disposés deux, l'un devant l'autre du côté anti-poral et le troisième, du côté poral. Les œufs ovalaires ont 33 à 39 μ sur 28 à 25 μ et l'onchosphère mesure 31 μ sur 22 μ .

Lorsqu'on compare cette description à la description originelle, on constate que le nombre des crochets est plus élevé et qu'il peut varier de 12 à 16. Or cette description était basée sur un seul exemplaire, mal conservé, ce qui explique également les autres différences constatées. Cependant, *H. dodecacantha* se reconnaît facilement à la

forme des crochets, avec la garde aplatie, ainsi qu'à leur longueur relativement peu variable, comprise entre 31 et 34 μ .



FIG. 14. — *Hymenolepis dodecacantha* Baer, 1925.

Quelques crochets vus sous des angles différents, montrant l'aplatissement de la garde.

Cette espèce a été signalée autrefois chez une Musaraigne au Congo Belge et ne paraît pas avoir été retrouvée depuis. Elle semble assez fréquente en Côte d'Ivoire.

BIBLIOGRAPHIE

- BAER, Jean-G. 1932. *Contributions à la faune helminthologique de Suisse* (2). Rev. suisse Zool. 39: 1-56, 32 fig., 1 pl.
- CABALLERO, E. 1942. *Trematodos de los Murciélagos de Mexico III. Descripción de Urotrema scabridum Braun, 1900, y posición sistemática de las especies Norte Americana de este género*. Ann. Inst. Biol. Mexico, 13: 641-648, 3 fig.
- DOLLFUS, R.-Ph. 1929. *Helmintha I. Trematoda et Acanthocephala. Faune des colonies françaises*, 3: 73-114, 23 fig.
- 1950. *Trematodes récoltés au Congo Belge*. Ann. Mus. Congo Belge, Zoologie, Sér. V, 1: 1-136, 104 fig.

- DUBOIS, G. 1938. *Monographie des Strigeida (Trematoda)*. Mem. Soc. neuch. sc. nat. 6: 1-535, 354 fig.
- 1953. *Systématique des Strigeida. Complément de la Monographie*. Ibid., 8: 1-141.
- 1956. *Contribution à l'étude des Trématodes de Chiroptères*. Rev. suisse Zool. 63: 683-695, 2 fig.
- DUBOIS, G. et FAIN, A. 1956. *Contribution à l'étude des Strigéida du Congo Belge, I*. Bull. Soc. neuch. sc. nat. 79: 17-38, 16 fig.
- EZZAT, M. A. E. 1954. *On some helminth parasites from Procaviidae*. Ann. Mus. Congo Belge, Zool. 1: 169-179, 14 fig.
- HOPKINS, G. H. E. 1949. *The host-associations of the Lice of Mammals*. Proc. Zool. Soc. London, 119: 387-604.
- JOYEUX, Ch. et BAER, J.-G. 1936. *Quelques helminthes nouveaux et peu connus de la Musaraigne, Crocidura russula Herm.* Rev. suisse Zool. 43: 25-50, 16 fig.
- 1949. *A propos des Ténias du genre Inermicapsifer récemment découverts chez l'homme*. Bull. Soc. Path. Exot. 42: 581-586.
- LENT, H., FREITAS, T. de, et PROENÇA, M. C. 1945. *Trematodeos de Morcegos colecionados no Paraguay*. Rev. Brasil. Biol. 5: 499-507, 8 fig.
- MAHON, June 1954. *Tapeworms from the Belgian Congo*. Ann. Mus. R. Congo Belge, Zoologie (V) 1: 137-264, 73 fig.
- PRICE, E. W. 1931. *Four new species of Trematode worms from the Muskrat, Ondatra zibethica with a key to the Trematode parasites of the Muskrat*. Proc. U. S. Nat. Mus. 79 (4), 4 fig.
- SANDOSHAM, A. A. 1951. *On two new helminths from the Orang Utan, Leiperrema rewelli n. g. n. sp. and Diofilaria immitis (Leidy, 1856)*. J. Helminth. 25: 19-26, 2 fig.
- SZIDAT, L. 1932. *Parasiten aus Liberia und Französisch-Guinea, II. Teil. Trematoden*. Zeitschr. f. Parasit. 4: 506-521, 6 fig.
- TRAVASSOS, L. 1944. *Revisao da Familia Dicrocoeliidae Odhner, 1910*. Monogr. Inst. O. Cruz. 2: 357 p., 124 pl.

	Pages
N° 16. E.-J. CHAROLLAIS. Les métabolites des androgènes (17-céto-stéroïdes) au cours du cycle normal et après hypophysectomie du Cobaye femelle	288
N° 17. Ernst SUTTER. Radar-Beobachtungen über den Verlauf des nächtlichen Vogelzuges. Mit 4 Abbildungen	294
N° 18. H. URSPRUNG. Untersuchungen zum Anlagemuster der weiblichen Genitalscheibe von <i>Drosophila melanogaster</i> durch UV-Strahlenstich	303
N° 19. H. MISLIN und H. HELFER. Erregungsleitung in der Wand der Flughautvenen (Chiroptera-Dreivenenpräparat). Mit 3 Textabbildungen	311
N° 20. Ernst HADORN. Über die Bildung der roten Augenpigmente von <i>Drosophila melanogaster</i> in Transplantaten	317
N° 21. Rudolf WEBER. Die Kathepsinaktivität im Schwanz von <i>Xenopus</i> -Larven während Wachstum und Metamorphose	326
N° 22. Georg BENZ. Regionale Verteilung der Kathepsinaktivität im Schwanz von gefütterten und hungernden <i>Xenopus</i> -Larven	337
N° 23. H.-A. GUÉNIN. Contribution à la connaissance cytologique des Scorpions: les chromosomes de <i>Pandinus imperator</i> Koch. Avec 9 figures dans le texte	349
N° 24. Margarethe GIHR. Zur Entwicklung des Hechtes. Mit 63 Textfiguren	355
N° 25. Hermann GISIN. Sur la faune européenne des Collemboles I. Avec 13 figures dans le texte	475
N° 26. P. GEIER. Observations sur les parasites du Carpocapse (<i>Cydia pomonella</i> L.) près de Genève. Avec 19 figures dans le texte	497
N° 27. Jean-Luc PERRET. Un nouveau <i>Phrynobatrachus</i> du Cameroun. Avec 2 figures dans le texte.	527
N° 28. F.E. LEHMANN. Die Schwanzregeneration de <i>Xenopus</i> -Larve unter dem Einfluss phasenspezifischer Hemmstoffe. Mit 2 Textabbildungen.	533
N° 29. Jean-G. BAER. Trématodes et Cestodes récoltés en Côte d'Ivoire, avec remarques sur la famille des <i>Dicrocoeliidae</i> Odhner et sur les parasites des Damans. Avec 14 figures dans le texte	547

PUBLICATIONS
DU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

En vente chez GEORG & Cie, libraires à Genève.

CATALOGUE DES INVERTÉBRÉS DE LA SUISSE

Fasc. 1.	SARCODINÉS par E. PENARD	Fr. 12.50
Fasc. 2.	PHYLLOPODES par Th. STINGELIN	» 12.50
Fasc. 3.	ARAIGNÉES par R. DE LESSERT	» 40.—
Fasc. 4.	ISOPODES par J. CARL	» 8.—
Fasc. 5.	PSEUDOSCORPIONS par R. DE LESSERT	» 5.50
Fasc. 6.	INFUSOIRES par E. ANDRÉ	» 18.—
Fasc. 7.	OLIGOCHÈTES par E. PIGUET et K. BRETSCHER	» 18.—
Fasc. 8.	COPÉPODES par M. THIÉBAUD	» 18.—
Fasc. 9.	OPILIONS par R. DE LESSERT	» 11.—
Fasc. 10.	SCORPIONS par R. DE LESSERT	» 3.—
Fasc. 11.	ROTATEURS par E.-F. WEBER et G. MONTET	» 36.—
Fasc. 12.	DÉCAPODES par J. CARL	» 11.50
Fasc. 13.	ACANTHOCÉPHALES par E. ANDRÉ	» 11.—
Fasc. 14.	GASTÉROTRICHES par G. MONTET	» 18.—
Fasc. 15.	AMPHIPODES par J. CARL	» 12.50
Fasc. 16.	HIRUDINÉES, BRANCHIOBELLES et POLYCHÈTES par E. ANDRÉ	— » 17.—
Fasc. 17.	CESTODES par O. FUHRMANN	» 30.50
Fasc. 18.	GASTÉROPODES par G. MERMOD	» 55.—

LES OISEAUX DU PORT DE GENÈVE EN HIVER

par F. DE SCHAECK

Avec 46 figures dans le texte.

Fr. 7.—

En vente au Muséum d'Histoire naturelle de Genève.

CATALOGUE ILLUSTRÉ
DE LA COLLECTION LAMARCK
appartenant au
MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

1^{re} partie. — FOSSILES
1 vol. 4^o avec 117 planches.

Fr. 300.—

IMPRIMÉ EN SUISSE

Tome 64

Fascicule 4 (N° 30-48)

Décembre 1957

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN

Conservateur des arthropodes

et

EUGÈNE BINDER

Conservateur des invertébrés



GENÈVE

IMPRIMERIE ALBERT KUNDIG

1957

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

Tome 64. En cours de publication.

	Pages
N° 1. Hans MATTER. Die formale Genese einer vererbten Wirbelsäulenmissbildung am Beispiel der Mutante Crooked-tail der Maus	1
N° 2. Robert MATTHEY. Cytologie comparée, systématique et phylogénie des <i>Microtinae</i> (<i>Rodentia-Muridae</i>). Avec 49 figures dans le texte)	39
N° 3. Jean-Luc PERRET et Robert MERTENS. Revision du matériel herpétologique du Cameroun, étudié par A. Monard	73
N° 4. Jean-Luc PERRET. Découverte de la femelle de <i>Chamaeleo quadricornis</i> Tornier et note sur les Caméléons du Cameroun. Avec 2 figures dans le texte	79
N° 5. Nelly BUCHER. Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Keimzellen und somatischen Zellen im Ovar von <i>Drosophila melanogaster</i> . Mit 34 Textabbildungen und 4 Tabellen	91
N° 6. V. AELLEN. Les Chiroptères africains du Musée zoologique de Strasbourg	189
N° 7. H. B. N. HYNES. Note sur les <i>Gammarus</i> de Suisse	215
N° 8. E. MAYR. Die denkmöglichen Formen der Artentstehung	219
N° 9. U. RAHM. Wichtige Faktoren bei der Attraktion von Stechmücken durch den Menschen	236
N° 10. H. BURLA und A. KÄLIN. Biometrischer Vergleich zweier Populationen von <i>Drosophila obscura</i>	246
N° 11. H. WOKER und K. WUHRMANN. Die Reaktion der Bachfauna auf Gewässervergiftungen	253
N° 12. Hans WACKERNAGEL. Versuch einer zeitgemässen Zootierernährung	263
N° 13. Anne M. DuBois. Altérations provoquées chez le fœtus de Cobaye par l'injection d'alloxane à la femelle gravide	268
N° 14. D. ROSENBUSCH-WEIHS et K. PONSE. Actions rapides et lointaines de l'hypophysectomie chez le Cobaye	271
N° 15. O. LIBERT, R. DOVAZ et M. M. PERRET. Les métabolites de la progestérone (GBS) dans le cycle normal et après hypophysectomie chez le Cobaye	281
N° 16. E.-J. CHAROLLAIS. Les métabolites des androgènes (17-cétostéroïdes) au cours du cycle normal et après hypophysectomie du Cobaye femelle	288
N° 17. Ernst SUTTER. Radar-Beobachtungen über den Verlauf des nächtlichen Vogelzuges. Mit 4 Abbildungen	294
N° 18. H. URSPRUNG. Untersuchungen zum Anlagemuster der weiblichen Genitalscheibe von <i>Drosophila melanogaster</i> durch UV-Strahlenstich	303
N° 19. H. MISLIN und H. HELFER. Erregungsleitung in der Wand der Flughautvenen (Chiroptera-Dreivenenpräparat). Mit 3 Textabbildungen	311
N° 20. Ernst HADORN. Über die Bildung der roten Augenpigmente von <i>Drosophila melanogaster</i> in Transplantaten	317
N° 21. Rudolf WEBER. Die Kathepsinaktivität im Schwanz von <i>Xenopus</i> -Larven während Wachstum und Metamorphose	326
N° 22. Georg BENZ. Regionale Verteilung der Kathepsinaktivität im Schwanz von gefütterten und hungernden <i>Xenopus</i> -Larven	337

(Voir suite page 3 de la couverture)

Prix de l'abonnement :

Suisse Fr. 60.—

Union postale Fr. 65.—

(en francs suisses)

Les demandes d'abonnement doivent être adressées à la rédaction de la Revue Suisse de Zoologie, Muséum d'Histoire naturelle, Genève

Radiations lumineuses et activité sexuelle du Canard

Histoire d'une recherche ¹

par

J. BENOIT

(Collège de France, Paris)

Chère Mademoiselle Kitty Ponse,

Je vous remercie vivement des paroles trop flatteuses que vous venez de prononcer à mon égard. Vous m'avez adressé des compliments bien lourds pour ma modestie. Je ne puis me tirer de cette épreuve que vous m'imposez qu'en vous disant, chère amie, ce que je pense de vous.

Je tiens à vous dire toute mon admiration pour votre œuvre scientifique, accomplie avec une conscience rigoureuse et pénétrée d'intelligence et de savoir.

Je veux dire aussi mon admiration profonde pour votre personnalité humaine, si riche de dévouement et d'altruisme.

Tous ceux qui vous connaissent bien, chère Kitty Ponse, attestent, j'en suis sûr, ce que je vous dis là.

* * *

Messieurs les Doyens des Facultés des Sciences et de Médecine,

Je tiens à vous remercier, ainsi que le Comité de la Société médicale de Genève, de m'avoir invité à parler devant cette assemblée et de m'avoir réservé l'honneur d'inaugurer ce cycle de trois conférences sur le contrôle hypothalamique des fonctions préhypophysaires.

¹ Conférence donnée à Genève le 27 mai 1957.

Monsieur le Consul général de France,
Mesdames, Mesdemoiselles, Messieurs,

Je me propose de vous exposer les résultats essentiels de mes recherches sur l'action gonadostimulante de la lumière chez les oiseaux. J'ai commencé ces recherches en 1933. Depuis 1950, je les ai poursuivies avec quelques collaborateurs et en particulier avec le Docteur ASSENMACHER, qui a participé à tous mes travaux depuis cette date avec une grande efficacité et une réelle originalité d'esprit.

Je voudrais exposer cette recherche en montrant — et je m'adresse tout particulièrement aux étudiants, aux jeunes chercheurs qui m'entendent :

- comment le problème envisagé se présente à moi;
- quel fut le cheminement progressif de ma pensée, avec ses bonnes idées, ses tâtonnements, ses erreurs.
- 1^o les premières recherches furent d'ordre essentiellement physiologique et me conduisirent à déterminer la chaîne des organes qui interviennent dans l'action gonadostimulante de la lumière.
- 2^o des problèmes histologiques et histophysiologiques se posèrent ensuite.
- 3^o mon problème présenta enfin, chemin faisant, des aspects endocrinologique, neuro-physiologique, physique biologique et biochimique.

Je me propose en somme de vous présenter l'historique d'une recherche qui partit — nous le verrons — d'observations empiriques, celles de paysans et d'aviculteurs, pour aboutir aux branches les plus spécialisées des Sciences biologiques.

Comment fus-je amené à étudier l'action stimulante de la lumière sur les glandes génitales des oiseaux?

En rentrant de vacances, en 1933, je lus quelques mémoires de BISSONNETTE, qui m'intéressèrent à un haut degré. La lumière, ce facteur externe universel et banal, se révélait capable de stimuler fortement le développement des gonades de l'Etourneau pris au repos sexuel, de les faire croître en peu de temps de plusieurs dizaines de fois en volume et, dans certaines conditions, d'avancer de plusieurs mois le développement sexuel qui se produit normalement au printemps. La lumière paraissait ainsi capable d'assurer le réglage, par rapport aux saisons, des cycles sexuels et des activités de l'organisme qui leur sont liées.

En vérité, des paysans et des aviculteurs avaient déjà, depuis plusieurs siècles, observé qu'un supplément d'éclairement, donné pendant la nuit, faisait pondre les poules plus tôt dans l'année. Pour ces premiers observateurs, profanes, l'éclairement agissait en prolongeant l'état de veille et en permettant à la volaille d'absorber une quantité plus considérable d'aliments, stimulant ainsi les fonctions génitales.

Cette conception, erronée, fut remplacée par la théorie, également inexacte, du savant canadien ROWAN (1925), premier biologiste qui étudia scientifiquement le problème que j'envisage.

A côté de résultats importants relatifs à la migration du Junco, passereau nord-américain, cet auteur crut pouvoir établir que l'éclairement des Oiseaux, en prolongeant leur état de veille, augmentait l'activité musculaire et le métabolisme, causes réelles de la stimulation de leurs gonades.

BISSENETTE, à partir de 1930, consacra de nombreux et intéressants travaux à l'étude de l'action de la lumière sur l'Etourneau. Il démontra l'inexactitude de la théorie de ROWAN et établit la spécificité de l'action de la lumière visible, tant du point de vue quantitatif que qualitatif (activité des radiations rouges en particulier). L'activité musculaire, la température, la quantité de nourriture n'ont pas d'effet. Mais BISSENETTE proposa des théories explicatives aventureuses, que la petitesse de son matériel ne lui permit pas de soumettre au contrôle expérimental.

Tel était l'état de la question lorsque j'entrepris, en fin 1933, de l'étudier à mon tour.

Mon matériel expérimental fut le Canard. Pourquoi ce choix? Je travaillais déjà sur cette espèce et je connaissais déjà sa résistance aux infections, aux opérations. J'avais apprécié la facilité avec laquelle on manipule cet Oiseau, vu sa taille, et peut immobiliser sa tête, vu son bec, pour maintes opérations utiles.

Bref, il devint, sur le plan expérimental, un collaborateur de mes rêves biologiques et presque un ami pour moi. Je ne suis pas aussi sûr d'être devenu le sien.

Le Canard présente en outre l'avantage d'un cycle sexuel très prononcé, ses testicules oscillant entre 2 grammes (adulte au repos sexuel) et 170 grammes environ (adulte en pleine activité sexuelle).

Pour suivre et chiffrer l'augmentation de taille des testicules, je dessinaï, au cours de laparotomies exploratrices, la silhouette

exacte du testicule gauche. J'établis ainsi sa surface au début, au cours et à la fin de l'expérience. Pour les testicules volumineux, la radiographie permet aisément, sans traumatiser l'animal, d'établir la surface exacte des silhouettes testiculaires.

Ma première expérience fut audacieuse, dans le sens peu flatteur du terme. Je fis faire des verres de lunettes, colorés en rouge, jaune, vert ou bleu, que je cousis à la peau, grâce à une monture métallique, devant les yeux de Canards impubères, laissés libres dans un parquet éclairé par la lumière du jour. Les testicules furent stimulés au maximum par les radiations jaunes, puis par les rouges, les vertes et enfin les bleues. Ce résultat n'était que partiellement exact, ainsi que je pus l'établir ultérieurement par des expériences rigoureusement conduites sur le plan physique. Les verres que j'avais fait faire, près de Strasbourg, à la cristallerie de Götzenbrück, étaient en effet loin d'être monochromatiques et ne pouvaient donner de résultats réellement valables.

J'entrepris ensuite d'en revenir à l'étude de l'effet de la lumière blanche, comparé à celui, éventuel, de la température.

Trois lots d'une dizaine de Canards impubères furent exposés, en octobre 1934, à Strasbourg, pendant trois semaines:

- 1° à la lumière du jour, dans un parquet extérieur. (Température de 0 à + 13°);
- 2° à une température variant de + 17 à + 22°, dans une pièce recevant la lumière du jour.
- 3° à un éclairage artificiel donné par des lampes électriques usuelles, pendant 15 heures par jour, dans une pièce non chauffée. (Température de + 8 à + 15°).

Seul ce dernier lot de Canards présentait une croissance testiculaire et cette croissance fut très importante.

La réponse testiculaire est rapide. Elle est déjà manifeste après deux jours d'éclairage et peut comporter, en trois semaines, une augmentation de 80 fois en volume.

Quels organes interviennent lors de la gonadostimulation?

La préhypophyse est indispensable à la réalisation du phénomène. Son ablation empêche la croissance des testicules et elle fait régresser ceux qui jusque-là étaient conditionnés par la lumière.

Implantée à la Souris femelle impubère, la préhypophyse se révèle très peu active sur le tractus génital, si elle émane de sujets

impubères ou adultes au repos sexuel, fort active, au contraire, lorsqu'elle provient de Canards éclairés et en croissance testiculaire.

L'éclairement artificiel entraîne une augmentation de volume et d'activité des cellules basophiles de la préhypophyse.

Mais sur quel organe agit d'abord la lumière?

Quel est son lieu d'impact dans l'organisme?

L'éclairement de diverses régions du corps, déplumées, ne donne aucune stimulation. En revanche, l'éclairement limité à la région oculaire stimule fortement les testicules.

L'excision ou la peinture des paupières n'empêche pas la gonadostimulation. Il semble que le globe oculaire intervienne dans ce phénomène.

Cependant, la section des deux nerfs optiques ou l'énucléation double des globes oculaires n'empêchent aucunement les testicules de croître sous l'effet des radiations lumineuses. Cela signifie-t-il que l'œil n'intervienne pas? — Nullement. Cela démontre simplement l'existence d'un photorécepteur, profondément situé et jusque-là ignoré.

Mais tout d'abord, l'œil intervient-il? — Trois expériences permettent de l'affirmer.

1. Sur des Canards impubères, le globe oculaire est entouré d'une substance opaque aux radiations visibles (lame de métal ou de caoutchouc, paraffine noircie à l'encre de Chine) et la moitié des sujets subit la section du nerf optique de l'œil intéressé.

La différence des réponses testiculaires des deux groupes de sujets, soumis à l'éclairement artificiel, dans des conditions égales, permet d'affirmer que l'éclairage localisé à l'œil seul entraîne la croissance des gonades.

2. l'éclairage latéral du globe oculaire, administré par une lame de verre incurvée, placée dans l'orbite latéralement contre l'œil et éclairée par sa tranche, stimule fortement le développement testiculaire.

3. des canards impubères sont fixés sur des planches et disposés, par paires, à des distances progressivement croissantes d'une source de lumière. Dans chaque paire, un sujet subit la section d'un nerf optique. Après plusieurs séances d'éclairement:

— les canards à nerf optique sectionné présentent, pour certaines distances de la source lumineuse, des croissances testiculaires indéniables: preuve de l'existence d'un photo-récepteur profond.

— les sujets intacts présentent, pour les mêmes distances, des réponses plus fortes : deux photo-récepteurs, profond et superficiel, ont joué dans ce cas, et la différence des réponses des deux séries traduit la part due au photo-récepteur superficiel rétinien.

Mais quel est ce photo-récepteur profond dont plusieurs expériences ont révélé l'existence?

L'éclairage par la bouche de la région hypophysaire au moyen d'une tige de verre recourbée conduisant les rayons lumineux de bas en haut, vers l'hypophyse, ne donna aucun résultat.

L'idée cependant était recevable. Mais je lui préfèrai celle de la conduite directe et contrôlée de la lumière jusqu'à l'hypophyse et l'hypothalamus, au moyen d'un tube de verre ou d'une baguette de quartz fixée dans l'orbite préalablement vidé de son contenu.

Dans ces conditions, l'éclairage de la région hypophysaire et de l'hypothalamus supérieur (niveau de la bandelette optique: noyaux supra-optiques et paraventriculaires), pratiqué en 2, 3 ou 4 séances successives provoque une forte gonadostimulation.

En fait, l'éclairement de la région hypophysaire affecte aussi bien l'éminence médiane (partie inférieure de l'hypothalamus) que l'hypophyse elle-même et je crois que c'est l'éclairement de celle-là et non pas de celle-ci qui est responsable de la gonadostimulation.

L'éclairement localisé au rhinencéphale (que l'on sait relié par des fibres nerveuses à l'hypothalamus) est lui aussi fortement gonadostimulant. Celui de la région occipitale postérieure (cortex visuel) est inefficace.

Ces expériences établissent ainsi un fait important: l'hypothalamus et certaines régions de l'encéphale en relation avec lui sont directement sensibles aux radiations lumineuses et répondent en stimulant fortement l'activité préhypophysaire gonadotrope. Des expériences dont je n'ai pas le temps de parler ici établissent même que, à condition que les rayons la frappent directement, sans tissus interposés, la région hypothalamique est plus sensible à ces rayons que la rétine elle-même; son seuil de réponse est notablement plus bas.

Mais les radiations lumineuses pénètrent-elles normalement jusqu'à ces régions encéphaliques, profondément situées dans la tête? — Une telle pénétration est certaine et plus importante

qu'on pouvait le penser. Des déterminations photographiques et photo-électriques ont permis de l'établir avec certitude.

Malgré le pigment contenu dans certains tissus, le globe oculaire joue vis-à-vis de la lumière extérieure le rôle d'une lentille qui localise les rayons sur la région hypothalamique. Cette observation inattendue et même un peu surprenante se vérifie sur d'autres oiseaux ainsi que sur plusieurs mammifères (Rat, Cobayes, Lapin, jeune Singe). Cette pénétration lumineuse, jusqu'à l'hypothalamus, doit donc être considérée comme un phénomène normal. Il y aurait peut-être lieu de se demander dans quelle mesure il peut jouer chez les mammifères, voire chez l'homme.

La lumière agit donc en définitive, chez le Canard au moins, en deux points de la voie nerveuse qui va de la rétine à l'hypothalamus: à l'origine et à la fin de cette voie nerveuse.

Je n'ai jusqu'ici parlé que de la lumière blanche. Quelles sont donc les radiations actives selon leur longueur d'onde, sur les photo-récepteurs superficiel et profond? Peut-être cette recherche nous procurera-t-elle quelque information utile sur les physiologies comparées de ces deux récepteurs?

Des Canards impubères sont fixés sur des planches et soumis, pendant 10 séances de 12 heures, à des éclairagements d'énergie strictement égale et aussi monochromatique que possible (emploi d'une lampe à vapeur de mercure et de filtres colorés composés, de l'ultraviolet au jaune; et d'une lampe à spectre continu et de filtres interférentiels, de l'orange à l'infrarouge proche). Dans ces conditions, seules les radiations oranges et rouges se révèlent actives. Les radiations visibles de plus courte longueur d'onde, l'ultraviolet de Wood et l'infra-rouge court sont inefficaces.

Les radiations rouges extrêmes et infra-rouges proches sont donc inactives sur les deux récepteurs, rétinien et hypothalamique. La rétine est sensible dans la région orange et rouge, sans que nous ayons pu encore préciser la forme de sa courbe de sensibilité. Quant aux radiations qui s'étendent du jaune à l'indigo, elles sont inactives sur la rétine. Elles le sont aussi sur le récepteur hypothalamique dans les conditions normales, les tissus et organes de la région orbitaire s'opposant à leur pénétration. Mais, conduites par la baguette de quartz jusqu'à l'hypothalamus, les radiations en question se révèlent fort actives. En conséquence, *non seulement l'hypothalamus est, en soi, plus sensible que la rétine, mais*

il est sensible aux radiations sur toute l'étendue du spectre visible, la zone de sensibilité rétinienne étant plus limitée.

Un autre résultat important se dégage de ces faits ainsi que de la détermination de la courbe de sensibilité de la rétine à la vision des couleurs. La recherche du réflexe pupillaire nous a permis d'établir que chez le Canard (comme d'ailleurs chez les autres Oiseaux, les Mammifères, l'Homme, et chez d'autres Vertébrés) la sensibilité maximum de la fonction visuelle photopique de la rétine se situe dans le jaune. Or pour cette même radiation (575 m μ), la fonction rétinienne impliquée dans la gonadostimulation a une sensibilité quasi nulle. De tout ceci résulte que la fonction rétinienne en rapport avec la stimulation du complexe hypothalamo-hypophysaire et des gonades, est différente de la fonction visuelle. Il s'agit d'une fonction végétative, non visuelle, à laquelle les physiologistes n'ont pas encore accordé l'attention nécessaire. Un auteur allemand, BECHER, a cependant décrit dans la rétine de divers Mammifères et de l'Homme des neurones spéciaux, qui seraient l'origine de cette voie végétative particulière, allant de la rétine à l'hypothalamus, et que la lumière exciterait pour stimuler ce dernier.

Arrivés en ce point, nous sommes encore devant deux grands problèmes:

1° celui du mécanisme intime de l'action de la lumière sur la substance nerveuse encéphalique.

Ce problème, neuro-physiologique et biochimique, est très important. Je ne l'ai pas encore abordé.

2° celui du trajet, de la nature et de la physiologie de la voie opto-hypothalamo-hypophysaire:

Comment la stimulation de l'hypothalamus (nerveuse par le nerf optique, ou lumineuse par action directe des rayons) se transmet-elle à la préhypophyse pour stimuler sa fonction gonatrophe?

Les théories purement nerveuses ne paraissent, ni sur le plan morphologique ni sur le plan physiologique, actuellement susceptibles de donner une explication suffisante des phénomènes. Mais l'étude histologique précise, sur coupes sériées, de la région hypothalamo-hypophysaire du Canard, révèle des faits importants qui suggèrent impérativement une autre théorie.

En effet, la préhypophyse du Canard reçoit presque tout son sang ou la totalité de ce sang, selon les cas, de deux douzaines de veines portes qui drainent un réseau capillaire primaire, très richement distribué à la surface de l'éminence médiane et alimenté par des artérioles issues de la carotide interne. D'autre part, dans une zone spéciale située entre le chiasma optique et le tractus formé par les veines portes et des cordons cellulaires de la *pars tuberalis* (« tractus tubéral »), l'éminence médiane renferme, dans sa couche superficielle sous-jacente au réseau capillaire primaire, des anses nerveuses très particulières, extrêmement nombreuses et qui se recourbent à quelques microns ou fractions de micron de ce réseau capillaire. Cette même zone spéciale renferme, probablement le long même des anses nerveuses, d'abondantes granulations d'un *neurosecrétat Gomori positif* qui provient des noyaux supra-optiques et paraventriculaires et peut-être aussi des noyaux infundibulaires et latéraux du tuber. Ces images histologiques, très suggestives, évoquent la possibilité, selon la théorie neuro-humorale de HARRIS, d'une fonction neurosécrétoire de certains noyaux hypothalamiques, orientée vers l'éminence médiane: un médiateur chimique, d'origine hypothalamique, est peut-être déversé à ce niveau dans le réseau capillaire primaire, et transporté à la préhypophyse pour lui communiquer, si l'on peut dire, des ordres émis par l'hypothalamus.

La situation, très particulière aux Oiseaux, du faisceau des veines portes, entièrement distinct de la tige pituitaire, à 2 millimètres environ en avant d'elle, permet l'exécution des trois opérations suivantes:

La section de la tige hypophysaire, ou « mischotomie »,

La section du tractus porto-tubéral, ou « tractotomie »,

La section transversale de l'éminence médiane, ou « éminentiotomie ».

Ces trois opérations, pratiquées sur des Canards impubères exposés ensuite à un éclairage artificiel, donnent les résultats suivants:

La section de la tige entraîne la régression de la *pars nervosa* mais n'empêche nullement la croissance testiculaire. Les deux autres opérations, au contraire, empêchent complètement cette dernière. Sans doute la *pars distalis* subit-elle, dans sa partie antérieure, une atrophie partielle. Mais il reste bien assez de parenchyme

glandulaire pour que celui-ci conditionne les testicules, s'il sécrétait normalement ses hormones gonadotropes. D'ailleurs, si les testicules restent inconditionnés, les thyroïdes et les surrénales ont une structure normale, témoignant la sécrétion de TSH et de ACTH.

Argument supplémentaire — l'étude de quelques sujets trachotomisés révèle chez eux une tolérance sensiblement normale à l'insuline, preuve de la conservation d'une sécrétion d'ACTH. (ASSENMACHER I. et MIALHE P., inédit).

Une telle dissociation entre les conditionnements testiculaire, thyroïdien et surrénal, s'observe d'ailleurs normalement, au début de l'hiver, chez les Canards en régression sexuelle saisonnière.

Quoi qu'il en soit, ces faits expérimentaux plaident, en ce qui concerne les fonctions gonadotropes, en faveur d'une théorie neuro-humorale, dans le sens conçu par HARRIS.

Un argument supplémentaire en faveur de cette opinion est fourni par les greffes intra-oculaires, auto- ou bréphoplastiques de préhypophyse: alors que l'hypophysectomie simple condamne les sujets à mort en quelques semaines, la même opération suivie de greffe leur permet de vivre pendant des mois, sans perte de poids. Les testicules cependant sont atrophiques. Les greffons sont bien vivants. Ils sont donc capables d'assurer certaines fonctions organiques qui maintiennent l'animal en bon état, mais, ne recevant plus directement le sang issu de la zone spéciale de l'éminence médiane, ils se montrent incapables d'assurer la gonadostimulation.

D'autre part, des lésions électrolytiques importantes des noyaux supraoptiques et paraventriculaires entraînent l'atrophie génitale, et la zone spéciale de l'éminence médiane se trouve dans ces cas très pauvre en neurosécrétat Gomori positif (expériences inédites du Dr ASSENMACHER).

Le déroulement historique des expériences précédentes nous a montré comment un facteur externe cosmique peut influencer fortement l'activité génitale d'un Oiseau par l'intermédiaire d'un organe des sens, l'œil, d'une voie nerveuse végétative et du complexe hypothalamo-hypophysaire.

Au niveau de ce complexe, une incitation nerveuse se transmettrait à la préhypophyse pour lui faire sécréter ses gonadotrophines, par une voie vraisemblablement neuro-humorale, peut-être de nature neurosécrétoire.

Tel est l'état actuel de l'étude du mécanisme de la gonadostimulation chez le Canard. Mon exposé se termine, comme il se doit, par des points de suspension... et d'interrogation, qui tiennent en puissance, souhaitons-le, les résultats nouveaux que des recherches ultérieures pourront apporter.

Greffes et reliquats hypophysaires

par

R. COURRIER

(Collège de France, Paris)

*En hommage respectueux et amical à
Mademoiselle Kitty Ponse.*

De nombreux auteurs ont greffé l'hypophyse dans des lieux éloignés de l'hypothalamus. On doit d'ailleurs se demander à présent si une hypophyse, écartée de sa situation normale, est réellement privée de toute trace d'hormone hypothalamique. Quoi qu'il en soit, les avis sont partagés quant à l'activité que peut exercer un tel greffon. Nous n'allons pas rappeler ici tous les travaux effectués sur les greffes hypophysaires et enregistrer les divergences des résultats; il faudrait une revue d'ensemble. Notre intention est de mentionner simplement quelques expériences réalisées dans notre laboratoire et que nous avons eu le plaisir de discuter récemment avec M^{lle} K. PONSE devant un microscope.

Les expériences ont été réalisées par M^{me} A. COLONGE. Chacune d'elles a porté sur des Rats mâles adultes provenant de la même nichée. Les uns servent de témoins normaux, les autres sont hypophysectomisés, d'autres enfin sont hypophysectomisés et reçoivent le même jour un greffon d'hypophyse prélevée sur leurs frères. Le greffon consiste en une hypophyse antérieure que l'on glisse sous le pont de membrane qui réunit les deux lobes thyroïdiens par-dessus la trachée. Pour attribuer une action glandulaire au greffon, il faut tout d'abord que l'expérience soit assez longue pour permettre d'éliminer l'hypothèse d'une simple résorption de produits se trouvant dans la glande au moment du prélèvement

pour la greffe. Il faut aussi que le porteur ne possède pas sur sa selle turcique de reliquat hypophysaire fonctionnel, à moins de pouvoir distinguer une action locale du greffon. Nous dirons immédiatement que de minutieuses coupes en série ont été pratiquées et que nous avons parfois découvert des trainées cellulaires dans l'épaisseur du conjonctif de la selle turcique; elles sont invisibles à la loupe et ne peuvent se confondre avec un reliquat résultant d'une hypophysectomie incomplète. Il s'agit sans doute de résidus embryonnaires, restés en chemin lors de l'organogenèse hypophysaire et qui peuvent subir une certaine hypertrophie du fait de l'hypophysectomie. Comme nous avons trouvé de tels résidus chez les sujets hypophysectomisés aux testicules très atrophiés; ils n'étaient donc pas fonctionnels. D'ailleurs nous avons constaté que le reliquat laissé sur la selle turcique lors d'une hypophysectomie incomplète exerce une action bien différente de celle d'une greffe d'hypophyse éloignée de l'hypothalamus. Nous voulons insister sur ce fait.

Dans nos expériences de greffes qui ont duré plusieurs mois, nous avons été surpris de trouver une dissociation bien nette des diverses activités préhypophysaires. Tout se passe comme si le greffon était capable de libérer une quantité relativement élevée de gonadostimuline, une quantité assez faible de thyroostimuline, alors que la corticostimuline paraît pratiquement inexistante.

Voici des chiffres recueillis parmi nos résultats, il s'agit de trois Rats frères:

	2 surrénales	1 testicule
Normal	28 mg	1.350 mg
Hypophysectomisé depuis 6 mois .	5 mg	180 mg
Hypophysectomisé et greffé depuis 6 mois	5 mg	965 mg

Celui qui porte au cou un greffon bien vascularisé, possède des surrénales aussi atrophiées que celles du sujet simplement hypophysectomisé, alors que ses testicules, bien que diminués pondéralement, sont en pleine activité spermatogénétique et bourrés de spermatozoïdes.

L'expérience suivante démontre bien aussi que le greffon hypophysaire exerce un pouvoir gonadotrope certain:

Un Rat est hypophysectomisé et reçoit une greffe au cou à l'âge de 3 mois. Quatre mois plus tard, on lui prélève un testicule, il pèse 195 mg (il avait été conservé dans un fixateur plusieurs mois avant d'être pesé), l'activité spermatogénétique est bien ralentie et l'on découvre quelques spermatozoïdes avec difficulté à l'examen histologique. L'animal est sacrifié 10 mois après la greffe; le testicule laissé en place pèse alors 490 mg, il a subi une hypertrophie compensatrice manifeste; il est chargé de spermatozoïdes. Mais les deux surrénales de cet animal pèsent ensemble 6 mg; c'est la zone fasciculée qui est atrophiée; la glomérulaire paraît bien développée.

Dans ces expériences, la thyroïde occupe une position intermédiaire; elle est frappée, mais beaucoup moins, semble-t-il, que la cortico-surrénale. D'ailleurs à l'examen microscopique on perçoit nettement une action locale du greffon: les vésicules qui avoisinent celui-ci ont un épithélium plus élevé que les vésicules plus éloignées. Pour avoir une idée plus précise de l'atteinte thyroïdienne, nous avons calculé le rapport H/P; c'est-à-dire le rapport des radio-activités globulaire et plasmatique, 20 heures après l'injection d'iodure de sodium marqué. Ce rapport est basé sur le fait suivant, découvert en 1944 avec JOLIOT, HOREAU et SÜE [1]: la paroi de l'hématie est perméable à l'iode anorganique et imperméable à l'iode hormonal. Immédiatement après l'injection d'iodure marqué, le rapport est élevé car il représente le coefficient de partage de l'iode anorganique entre les hématies et le plasma; mais à mesure que de l'iode hormonal radioactif est libéré par la thyroïde dans le sang, le rapport H/P diminue jusqu'à un certain équilibre [2]. Chez le Rat normal, H/P varie de 0,1 à 0,2; chez le Rat hypophysectomisé, il se place autour de 0,70. Chez nos sujets hypophysectomisés et porteurs d'une greffe hypophysaire, il atteint les valeurs suivantes: 0,45-0,57-0,62, révélant ainsi une déficience thyroïdienne plus ou moins grave.

Ayant enregistré cette dissociation entre les diverses fonctions de la préhypophyse du fait de nos greffes, nous avons pratiqué des expériences d'hypophysectomie partielle chez le Rat. Il nous a été impossible de reproduire de cette manière la même dissociation. Bien au contraire, le testicule paraissait atteint le premier. Certains

auteurs nous ont d'ailleurs devancés dans cette voie. C'est P.-E. SMITH [3] qui commença en 1932; il remarqua que la suppression de 70 % de la préhypophyse chez le Rat ne produisait aucune modification des gonades, des thyroïdes, des surrénales. Lorsque les 90 % du parenchyme avaient été extirpés, la déficience des gonades était toujours très nette, alors que l'histologie de la thyroïde, de la surrénale pouvait n'offrir encore aucune anomalie. Le même problème a été repris en 1947 par KELLER et BRECKENRIDGE [4] chez le Chien, et en 1956 par GANONG et HUME [5] chez la même espèce; leurs résultats ont été semblables à ceux de SMITH. Il est d'ailleurs curieux de retrouver toujours le même ordre dans l'atteinte, alors que, suivant les expériences, le reliquat doit sans doute comprendre des zones variables de la préhypophyse; la répartition topographique assignée aux divers éléments cellulaires dans la glande ne paraît pas intervenir, ce qui est étrange.

Quoiqu'il en soit, nous voulons signaler ici la différence très grande des résultats apportés par la greffe d'hypophyse au cou ou par l'ablation partielle de cette glande, le reliquat étant laissé *in situ*. Les dissociations fonctionnelles qui se produisent dans les deux cas sont inversées. Comment expliquer une telle différence? Malgré les troubles vasculaires produits lors de l'intervention, le reliquat qui demeure sur la selle turcique, doit être en rapport plus étroit avec les substances hypothalamiques que la greffe cervicale. L'examen histologique peut apporter des données intéressantes. M. HERLANT a procédé à l'analyse cytologique de nos greffons; ceux-ci sont parfaitement vascularisés; les granulations chromophiles ont disparu; mais les cellules hypophysaires renferment dans leur cytoplasme des nuages de ribonucléines. Nous reviendrons avec M. HERLANT sur cette étude. Je note simplement à ce sujet une remarque de STUTINSKY [6], il a retrouvé chez le Rat le résultat qu'il avait signalé autrefois avec R.-M. MAY sur la Souris: la séparation du lobe antérieur des centres hypothalamiques entraîne rapidement la dégranulation des cellules éosinophiles; or on attribue à ces éléments la sécrétion de la substance corticotrope.

Dans un reliquat hypophysaire conservé sur la selle turcique on trouve encore des cellules chromophiles. L'aspect n'est donc pas le même que celui de nos greffons qui sont devenus chromophobes.

BIBLIOGRAPHIE

1. JOLIOT, COURRIER, HOREAU ET SÜE. 1944. C. R. Acad. Sciences. 218: 769.
 2. COURRIER, MOREL, COLONGE et ANDRÉ. 1954. C. R. Acad. Sciences. 238: 423.
 3. SMITH, P. E. 1932. Anat. Record. 52: 191.
 4. KELLER et BRECKENRIDGE. 1947. Am. J. Physiol. 150: 222.
 5. GANONG et HUME. 1956. Endocrinology. 59: 293.
 6. STUTINSKY. 1957. Arch. Anat. microscop. 46: 93.
-

Observations on the breeding of the American opossum in Florida

by

R. K. BURNS and **Lucile M. BURNS**

(Department of Embryology, Carnegie Institution of Washington)

GENERAL REMARKS

In view of the special status of the North American opossum (*Didelphis virginiana* Kerr) as the only marsupial species occurring north of Mexico, and its widespread distribution in the United States, it is surprising that the reproductive history of this interesting animal has not been more extensively studied. Only two important contributions deal with the reproduction of the opossum in a state of nature, and these are limited to southwestern areas. The pioneer studies of HARTMAN were carried out in Texas and appeared in a series of papers published from 1916 to 1928. They have recently been summarized in a fascinating historical account of the opossum (HARTMAN, 1952) in which a complete bibliography is found. The other study is more recent and deals with the opossum in California (REYNOLDS, 1952). This work is of special interest as the opossum is not native to the Pacific coastal region of the United States. Beginning about 1870 opossums were transported to California at various times by emigrants from central United States, and the animal is now widespread and well established as a breeding species (GRINNELL, DIXON and LINDSALE, 1937).

The work of REYNOLDS has further interest in that this author studied the reproduction of the opossum simultaneously in its natural state and under conditions of captivity. No important

differences were observed with respect to the main features of reproduction; wild and captive females enter into the first estrus and produce young at about the same time, and in general the length of the estrus cycle and the period required for rearing and weaning of young are the same. REYNOLDS gives no detailed description of the conditions under which captive animals were maintained; other workers, however, have found that the opossum does not do well in close confinement. Breeding is greatly reduced and irregular in occurrence, and the adults are hard to maintain in good physical condition. On the other hand, in large outdoor enclosures under more natural conditions breeding is improved (McCRADY, 1938; COGHILL, 1939; MOORE and BODIAN, 1940), although still far below the normal rate.

The embryological development of young opossums has been the subject of a series of papers by HARTMAN (1916, 1919, 1928) with main emphasis on the earlier stages, and McCRADY (1938) has treated the entire intrauterine period of development in more detail, setting up a series of normal stages (1-35) recognizable on the basis of external form. According to McCRADY birth takes place at stage 35, which is attained about 12 days 18 hours after mating. REYNOLDS thinks the average length of gestation is probably a little longer—13 days (\pm).

The gonads of newborn opossums are just at the threshold of histological differentiation, and many of the primordia representing the embryonic genital tract have not yet been laid down. For example, the ostium of the Müllerian duct is not formed until about the third day after birth and the duct is not complete until the tenth day. Prostatic buds do not appear in males until about the 17th day. The mesonephros remains functional during the first two weeks of postnatal life and retrogresses very slowly. Obviously the embryonic period as usually defined extends far beyond the stage of birth.

BREEDING SEASON IN VARIOUS REGIONS OF UNITED STATES

The breeding season of the opossum varies considerably in different regions of the United States, being determined in a general way by latitude and climatic conditions. In the southern states it begins in mid-January and extends (including the period

of rearing young) until September or October. A relatively brief anestrus of 2-3 months follows. The opossum is polyestrus with cycles which average about 28 days according to HARTMAN (1923), or 29.5 days according to REYNOLDS (1952). The variation is very great, however, HARTMAN reporting a range of 24 to 34 days, REYNOLDS 22 to 38 days. Females which do not become pregnant run 5 or 6 cycles ordinarily before going into anestrus (REYNOLDS). Due to the long time required to rear the young after birth (3-4 months for a litter) only two litters can be reared in a year. However, if a litter is lost early, very often another is produced to take its place. Thus three litters (or in theory even more) might be born although not more than two can be reared to the weaning stage.

In southern latitudes first litters are born at the end of January and in February, and progressively later farther north. The second breeding takes place in May or June or even as late as July according to latitude. It appears that almost all females of breeding age and in good health breed at the first period; the production of second litters is, however, by no means so regular. Exact percentages cannot be given, but it is generally agreed that many females fail to breed a second time, and that the date of the second breeding when it occurs is more variable.

It is of interest also that a certain number of females breed while still very young, at a weight of hardly 40% of their final adult size. Female opossums that reach full size weigh up to 2.5 kgm. or sometimes even 3 kgm., but the average is much lower owing to the fact that many do not survive to reach full size. There are numerous records of very small females, weighing a kilogram, or even less, which had young or were pregnant. HARTMAN (1928) cites five such specimens (which he refers to as "adolescents"), weighing from 660-900 gms., and the writers have records of several young females weighing but little more than a kilogram which carried young (Table 3). It is thought (HARTMAN, REYNOLDS, e.g.) that such small females are from second litters of the preceding year and so would be about 6 months of age or somewhat more.

two weeks (Table 1). This indicates that a very high proportion of females breed and bear young following the first estrus period of the year; and there is reason to believe that the percentage of females breeding at this time may be even greater than appears in the table. It has been found that in many cases females which

Number of Young Opossums per Litter in Various Regions
of the United States

STATE	INVESTIGATOR	Average Number per Litter	Number of Litters
IOWA	Wiseman & Hendrickson—1950	9.0	—
MISSOURI	Reynolds—1945	8.9	42
NEBRASKA	Reynolds (unpublished data— see Reynolds 1952)	8.6	23
MARYLAND	Llewellyn—unpublished data	8.5	44
KANSAS	Fitch & Sandidge—1953	7.4	28
CALIFORNIA	Reynolds—1952	7.2	44
TEXAS	Hartman—1928	6.6	28
TEXAS	Lay—1942	6.8	65
FLORIDA	Burns & Burns	6.26	50

TABLE 2.

Average number of young per litter in various regions of the United States. In the case of Hartman, 1928, the data are taken from appendices A and B of that paper. They agree closely with the data of Lay.

happen to lose their young for any reason, at birth or afterwards, breed again rather promptly, and thus produce another litter after a certain delay. It is possible then that some of the scattered births occurring after February 10 (Table 1) are cases of this kind. This would increase the percentage of females which actually bred at the first estrus. On the other hand, some late births undoubtedly are due to failure to mate at the first period, or to the fact that a few females come into the first estrus rather late. This may sometimes be the case for the young females mentioned earlier (p. 597), but it is certainly not the rule, since some small females are found among the earliest breeders.

It is seen from the data of Table 1 that there is a remarkable concentration of births in early February. This climactic period of reproduction falls about a week later than the corresponding peak in Texas, according to HARTMAN (1928), and a week earlier than the peak recorded for California by REYNOLDS. (See BURNS and BURNS, 1956, Table 2. In the case of REYNOLDS' data the birth date is obtained by adding 13 days, the length of gestation, to the date of the first estrus.) In Texas and California also the period of births is not so sharply concentrated as in Florida and at present the reason for this difference is not apparent.

AVERAGE NUMBER OF YOUNG PER LITTER IN VARIOUS REGIONS

It is interesting to compare the average number of young per litter in Florida with other areas of the United States for which adequate data are available. These regions all lie west of the Mississippi River, representing the west central and southwestern

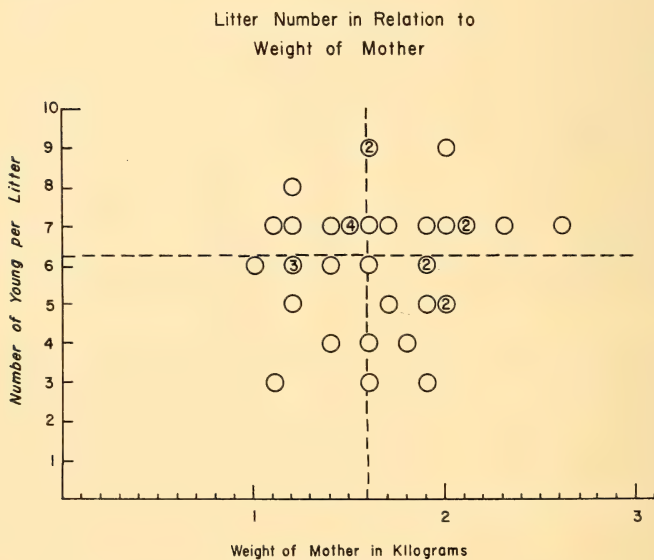


TABLE 3.

Number of young per litter for 38 litters of young opossums in relation to the weight of the mother. There is no correlation between the weight of the mother and the number of young in the pouch. Numbers in circles indicate number of litters in that position.

regions of the country (Table 2). In general, litter size decreases steadily with latitude from north to south, and the average number per litter for Florida (6.25) is the lowest yet recorded. Data are lacking to determine whether this decline is correlated with the size of the adult animal. In Florida adult opossums tend to be somewhat smaller than in northern United States; however, in Florida there is no correlation whatever between the size of the mother and the average number of young. Females of less than average size, even those very small females referred to earlier which breed at an age of 6 or 7 months, may have litters as large as those of fully grown females (Table 3).

Litter size as listed in Table 2 does not refer to the number of young actually born: it means the number found attached and undergoing development in the pouch. In the case of the Florida data the litters were of various ages, from a few days after birth to large young almost ready to leave the pouch. The number born is much larger, but many do not succeed in entering the pouch and some that get in fail to find a nipple—a question to be considered later.

LENGTH OF GESTATION AND STAGE AT WHICH THE YOUNG ARE BORN

There is now rather close agreement on the length of gestation in the opossum. McCRADY (1938) placed the duration at 12 days 18+ hours and evidently believed that birth occurs rather precisely at this time. REYNOLDS (1952) considers it to be about 13 days and recognizes variation over a range of as much as 12 hours (p. 239). He believes the differences are probably due to variation in the time of ovulation. Since the cases in which both mating and birth of the young have been observed are few, and since ovulation is spontaneous in the opossum and not determined by copulation, it is impossible to be precise on this point.

On the other hand, there is direct evidence of another kind indicating considerable variation in the time of birth. This evidence is based on marked morphological differences in different litters at birth. McCRADY (1938) described a series of normal stages for the period of intrauterine development which are readily distinguishable in the later stages of gestation by differences in

external form. After the tenth day the stages are separated by half-day intervals. Birth occurs at stage 35, which falls about the middle of the second half of the 13th day (12 days, 18+ hours, as noted above). The stages are thus of 12 hours duration, and of course the transitions are gradual. Stage 34 is centered, then, around the middle of the first half of the 13th day, about 12 hours earlier than stage 35. It is characterized by two external features. The general form of the head is elongate and angular, giving it a curious block-like appearance, whereas at stage 35 the head is rounded or ovoid in shape. But even more diagnostic is the unique oral shield (McCRADY, 1938, fig. 53) which is fully developed at stage 34 but has disappeared at stage 35. On close inspection it is easy to distinguish the two stages on the basis of these characters (see figs. 2 and 3, BURNS, 1956).

During recent years a considerable number of litters have been obtained which were born at stage 34; moreover, HARTMAN (1952) shows photographs of three different litters (pp. 90, 96, 113), labeled "new-born", which from the configuration of the heads are certainly at stage 34. It would appear, then, that birth not infrequently takes place at this stage, some 12 hours earlier than the time assigned by McCRADY. Nor can these litters be considered "premature" in the usual sense. They suffer no apparent handicaps and are fully viable, as evidenced by the fact that they are found in the pouch and attached to the nipples in the same numbers (on the average) as those born later. Also they survive experimental treatment just as well. This discovery has been of great importance in the experimental work. At stage 34 the embryonic testis responds readily to hormone treatment. Estradiol dipropionate transforms it readily into a somewhat imperfect ovary. By stage 35 such reactivity has been lost entirely (BURNS, 1955, 1956).

REPRODUCTIVE CAPACITY OF THE OPOSSUM AND ITS LIMITING FACTORS

The reproductive capacity of the opossum cannot be gauged or understood on any single basis. Primarily, fertility depends on the number of eggs which may be matured and ovulated, and this number is very large indeed. According to HARTMAN (1952)

30 eggs or more are not infrequently produced. He has records as follows: 30, 33, 33, 36, 39, 39, 43, 44, 44, 45, 56; and these numbers are of eggs actually recovered after washing out the uteri. Many, however, had not been fertilized or at least were not developing, and a considerable loss evidently occurs early in development.

DISTRIBUTION OF LITTERS ACCORDING TO
LITTER NUMBER—50 LITTERS

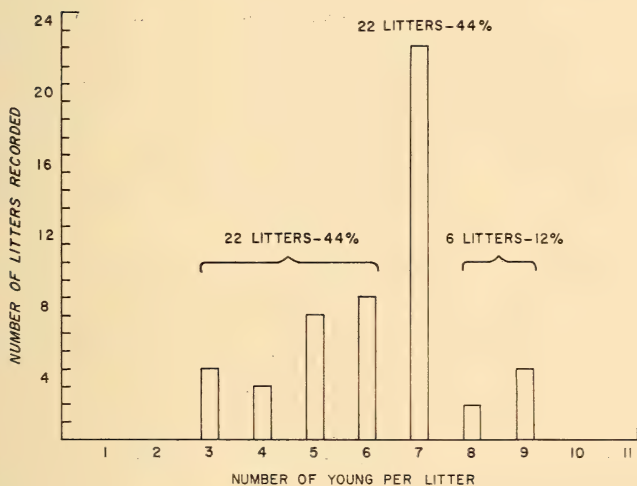


TABLE 4.

Number of young for 50 litters of young opossums arranged according to litter size. The great majority of litters consisted of seven young or less.

Later in gestation HARTMAN reports an average of 22 blastocysts in the uteri where they are often very crowded. This condition probably results in further losses prior to birth.

The question arises next as to the number born, and the losses that ensue through failure to get into the pouch and to find a nipple. Since birth is rarely observed in the opossum, existing data are hardly adequate to settle these points with finality, but they are highly interesting and suggestive. In many cases the numbers born are certainly large, and may approach the average number of blastocysts (22) cited by HARTMAN in his studies of development *in utero*. REYNOLDS (1952, pp. 256-258) actually

observed the birth of four litters of 4, 15, 13 and 25 young—a total of 57. Of these only 34 (or 60%) succeeded in gaining the pouch, and some of these failed to find a nipple. On the other hand HARTMAN (1952) cites an instance in which 21 newborn young were seen in the pouch of which 12 were attached—certainly an exceptional case.

There is, then, inevitably a great loss of young at birth due to failure to get into the pouch or failure to find a nipple. As there are only 13 nipples (or very exceptionally an extra pair) this is obviously a final limiting factor, and, as REYNOLDS suggests, perhaps not all nipples are functional. Reference to Table 2 shows that average litter numbers fall far short of the number of nipples except in the more northern states. In any region litters of more than 10 are certainly uncommon. The reason is not clear unless it is a question of the number of nipples that are functional.

REYNOLDS mentions further that in California 25% of all litters consisted of 7 young, and notes a tendency for the young to occupy the more posterior nipples. In some cases the anterior nipples appeared to be less developed, but histological studies were not made. It is a curious fact that in Florida no less than 44% of all the litters recorded had 7 young (Table 4) suggesting that this is the "optimal" number. However, the remaining litters are not evenly distributed around 7 as a mean; almost all have less than 7 and only 6 litters out of a total of fifty have more than that number. It would appear that some condition is tending to restrict litter numbers to 7 or less and, as suggested above, it is possibly a matter of the number of nipples which are functional. As yet there has been no opportunity to investigate this interesting question.

LITERATURE CITED

- BURNS, R. K. 1955. *Experimental reversal of sex in the gonads of the opossum *Didelphis virginiana**. Proc. Nat'l. Acad. Sciences. 41: 669-676.
- 1956. *Transformation du testicule embryonnaire de l'opossum en ovo-testis ou en « ovaire » sous l'action de l'hormone femelle, le dipropionate d'estradiol*. Arch. d'Anat. micr. et de Morph. expér. 45: 174-202.

- BURNS et L. M. BURNS. 1956. *Vie et reproduction de l'opossum américain *Didelphis marsupialis virginiana* Kerr.* Bull. Soc. Zool. France. 81: 230-246.
- COGHILL, G. E. 1939. *Studies on rearing the opossum (*Didelphis virginiana*)*. Ohio J. Sci. 39: 239-249.
- FITCH, H. S. and L. L. SANDIDGE. 1953. *Ecology of the opossum on a natural area in northeastern Kansas.* Univ. Kansas Publications. Museum Nat. Hist. 12: 305-338.
- GRINNELL, J., DIXON, J. S. and J. M. LINSDALE. 1937. *Furbearing mammals of California.* Univ. California Press, Berkeley. 1: 49-60.
- HARTMAN, C. 1916. *Studies in the development of the opossum *Didelphis virginiana* L.* I. History of the early cleavage. II. Formation of the blastocyst. J. Morph. 27: 1-84.
- 1919. *Studies in the development of the opossum *Didelphis virginiana* L.* III. Description of new material on maturation, cleavage and entoderm formation. IV. The bilaminar blastocyst. J. Morph. 32: 1-144.
- 1923. *The oestrus cycle in the opossum.* Am. J. Anat. 32: 353-421.
- 1928. *Breeding season of the opossum (*Didelphis virginiana*) and the rate of intrauterine and postnatal development.* J. Morph. 46: 143-215.
- 1952. *Possums.* Univ. Texas Press. Austin, U.S.A.
- LAY, D. W. 1942. *Ecology of the opossum in eastern Texas.* J. Mammalogy. 23: 147-159.
- MOORE, C. R. and D. BODIAN. 1940. *Opossum pouch young as experimental material.* Anat. Rec. 76: 319-327.
- MCCRADY, E. 1938. *The embryology of the opossum.* Amer. Anatomical Memoirs, No. 16. Wistar Institute of Anatomy and Biology. Philadelphia, U.S.A.
- REYNOLDS, H. C. 1952. *Studies on reproduction in the opossum (*Didelphis virginiana virginiana*)*. Univ. of California Press. Volume 52. No. 3. 223-284.
- WISEMAN, G. L. and G. O. HENDRICKSON. 1950. *Notes on the life history and ecology of the opossum in southwest Iowa.* J. Mammalogy. 31: 331-337.
-

Bembix turca Dahlb. et **flavescens** Sm. (Hym. Sphecid.)

par

Jacques DE BEAUMONT

J'ai précédemment signalé (1951, 1953) que divers *Bembix*, décrits comme espèces distinctes, *turca* Dahlb., *flavescens* Sm., *bolivari* Handl., *fonti* Merc., *citrina* Merc., *algeriensis* Lohrm., représentaient en réalité une série de sous-espèces géographiques, dont la forme la plus anciennement décrite, *turca*, devait être considérée comme typique; se basant sur mes observations, BYTINSKI-SALZ a encore ajouté à cet ensemble une nouvelle forme, qu'il a nommée *turca picturata*. Une étude plus approfondie m'a contraint à modifier un peu mon point de vue; il m'apparaît en effet maintenant que *turca* est spécifiquement distinct des autres formes; ces dernières doivent se rattacher subspécifiquement à *flavescens* Sm.

J'indiquerai ci-dessous les principaux caractères distinctifs entre *turca* et *flavescens* et je décrirai la variation géographique de cette dernière espèce; une rapide comparaison avec d'autres espèces voisines m'a paru intéressante.

Il est utile, chez les ♂ de *Bembix*, d'étudier non seulement en détails l'armature génitale, mais aussi la structure des 7^e et 8^e segments abdominaux. Le 7^e tergite porte de chaque côté, comme chez la plupart des *Bembecini* et *Stizini* (DE BEAUMONT 1954b) un appendice plus ou moins développé, replié sur la face ventrale et que l'on peut nommer les lobes latéraux du 7^e tergite; le 7^e sternite présente souvent d'excellents caractères spécifiques, visibles surtout si cette pièce est en partie extraite. Le 8^e sternite est ter-

miné par une longue pointe, dont l'extrémité fait généralement saillie à l'extrémité de l'abdomen; quant au 8^e tergite, non visible de l'extérieur, il porte généralement, comme le 7^e, des lobes latéraux, dont la forme et la pilosité sont utiles à considérer.

DISTINCTION DES DEUX ESPÈCES.

La coloration de *flavescens* étant extrêmement variable ce sont surtout les caractères morphologiques qui permettent de distinguer

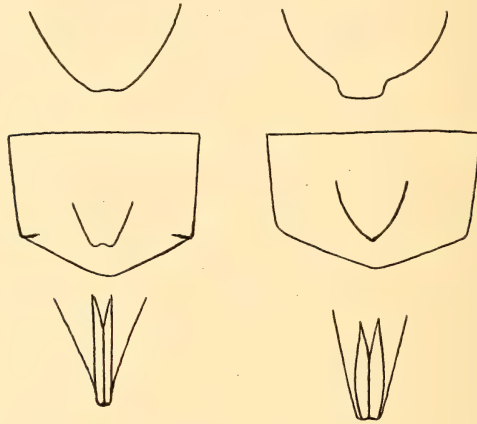


FIG. 1.

A gauche: 7^e tergite, 6^e et 7^e sternites de *Bembix turca* ♂. A droite: les mêmes pièces chez *Bembix flavescens citrina*.

les deux espèces et en particulier la structure des derniers segments abdominaux du ♂ (fig. 1).

La plateforme du 6^e sternite est généralement échancrée à l'extrémité chez *turca*, tandis que son bord postérieur est arqué ou pointu chez *flavescens*; la forme varie cependant avec la taille des individus et une échancrure du bord postérieur peut apparaître chez les petits *flavescens*. Aux angles postérieurs du 6^e sternite, on remarque chez *turca* un tubercule saillant, à bord postérieur tranchant; cette particularité manque chez *flavescens*. Le bord postérieur du 7^e tergite présente très généralement chez *flavescens* une partie médiane plus ou moins proéminente; chez *turca*, cette saillie manque ou n'est qu'à peine indiquée; elle est parfois rem-

placée par une légère échancrure. La partie terminale du 7^e sternite de *turca* est très étroite, avec 3 carènes parallèles sur une assez grande longueur; chez *flavescens*, la partie terminale du 7^e sternite est plus large, avec 3 carènes plus courtes et moins serrées, les externes un peu arquées. Les lobes latéraux du 8^e tergite sont plus larges chez *turca*. La forme générale des valves de l'armature génitale ne permet guère de distinguer les deux espèces; par contre, la pilosité de leur face inférieure, qui est très dense jusqu'à l'extrémité chez *flavescens*, devient plus rare à cet endroit chez *turca*; il y a encore d'autres différences dans la disposition de la pilosité; les volselles sont plus épaisses à l'extrémité chez *turca*.

A ces nettes différences dans la structure des derniers segments du ♂, je puis ajouter les particularités suivantes. Chez les deux sexes, les articles du funicule sont plus courts chez *turca*; la base des scapes est proportionnellement plus épaisse chez le ♂ de cette dernière espèce. Le crochet du 2^e sternite, très variable avec la taille, est en général plus aigu à l'extrémité chez *flavescens*. La ponctuation des sternites 2-6 de la ♀ et 3-5 du ♂ est en moyenne nettement moins dense chez *turca*; de même, la ponctuation des derniers tergites est généralement moins dense chez *turca*.

Bembix turca Dahlb.

B. turca Dahlbom 1845, p. 488, ♂. ! Typ. Stockholm. Loc. typ. Ile de Rhodes.

B. melaena Smith 1856, p. 320, ♂. Typ. Londres. Loc. typ. Albanie.

Grâce à l'amabilité du Dr MALAISE, j'ai pu étudier les exemplaires typiques, provenant de la collection HEDENBORG; il y a 4 ♂; celui qui est désigné comme type porte une étiquette de la main de DAHLBOM « *Bemb. turca* nov. sp. »; les 3 autres sont étiquetés « Rhodus » et « Hedenb. ». J'ai encore examiné les spécimens suivants: 3 ♂ d'Epire et 1 ♂ d'Albanie (HANDLIRSCH det., Mus. Vienne); 1 ♂ étiqueté « Die Bucht von Enischary » (WUCZETICZ det., Mus. Vienne); 8 ♂ et 6 ♀ de Bulgarie (W.-J. PULAWSKI leg.); 1 ♂ de Sarepta (HANDLIRSCH det., Mus. Genève). HANDLIRSCH (1893) cite encore l'Ile Marabus, mais cette indication se rapporte sans doute à une autre espèce. M. YARROW a bien voulu étudier d'après mes indications le type de *melaena* Sm. et confirmer que cette espèce est bien synonyme de *turca*.

Le matériel que j'ai examiné est insuffisant pour donner une idée d'une éventuelle variation géographique. On peut dire en tous cas qu'il s'agit d'une espèce dont les ♂ sont très foncés. Les ♂ de Rhodes, de Bulgarie et d'Epire ont le thorax et l'abdomen noirs ou ne montrant que de très petites taches blanchâtres sur les tergites 2 ou 2 et 3. Le ♂ d'Albanie a de petites taches au prothorax et aux angles postérieurs du mésonotum et du scutellum; les 2^e et 3^e tergite portent des taches en formes de petites lignes transversales. Chez le ♂ d'Enischary, ces taches prennent l'aspect de bandes très étroites, interrompues, et il y a des taches latérales sur le 5^e tergite. Le ♂ de Sarepta est le plus clair, ayant des bandes blanchâtres, étroites et interrompues, sur les tergites 1-5. Chez tous ces ♂, les mandibules, le labre, le clypéus (sauf sa base), une tache sur le bas de la face et des stries pré- et postoculaires sont d'un jaune blanchâtre. Les fémurs sont noirs, tachés de jaune, les tibias jaunes, tachés de noir. Les seules ♀ que j'ai vues, de Bulgarie, sont beaucoup plus claires que les ♂; le thorax montre de petites taches claires sur le pronotum, les angles du mésonotum, les côtés du scutellum, le propodéum; les tergites 1-5 montrent une bande glauque, un peu teintée de jaune en avant, la première faiblement interrompue, les suivantes élargies au milieu et sur les côtés. D'après les indications que l'on peut tirer de la table de détermination de HANDLIRSCH, il est possible que certaines ♀ aient, comme les ♂, des dessins clairs très réduits sur l'abdomen.

Bembix flavescens Sm.

L'espèce est répandue dans l'Europe du S.-O., l'Afrique du nord et l'Asie occidentale; elle présente une notable variation géographique qui affecte la coloration et certaines particularités morphologiques. On peut distinguer ainsi une série de sous-espèces, dont les unes sont très nettement caractérisées, d'autres moins. Je décrirai tout d'abord, pour chaque sous-espèce, les caractères chromatiques, laissant pour un paragraphe spécial les particularités structurales. Dans la description de la coloration, je laisserai de côté certaines particularités communes à toutes les races; ainsi, les mandibules, le labre, le clypéus (sauf parfois sa base), une tache sur le bas de la face, au contact du clypéus (rarement absente),

des stries pré- et postoculaires, la face inférieure des scapes, sont toujours jaunes.



FIG. 2.

Répartition géographique de *Bembix turca* et *flavescens*. a: *flavescens algeriensis*. b: *flavescens bolivari*. c: *flavescens citrina*. f: *flavescens fonti*. fl: *flavescens flavescens*. i: *flavescens inimica*. k: *flavescens kittyae*. p: *flavescens picturata*. t: *turca*.

Bembix flavescens flavescens Sm.

B. flavescens Smith 1856, p. 321, ♂. Typ. Londres. Loc. typ. Tenerife.

C'est la race des Canaries. J'ai examiné une trentaine d'individus de Tenerife et trois de la Grande Canarie.

Le dimorphisme sexuel chromatique est beaucoup plus accusé que chez les autres sous-espèces. Les ♂ de Tenerife représentent la forme la plus claire de l'espèce, ayant des dessins, d'un jaune verdâtre clair, assez étendus. Le clypéus n'est pas taché de noir; les stries préoculaires sont larges, mais n'atteignent pas le vertex; la tache sous-oculaire est présente. Les dessins du thorax comprennent: une grande partie du prothorax, des bandes latérales au mésonotum, 2 étroites stries discales (parfois absentes) sur celui-ci, une ou deux taches (rarement absentes) aux mésopleures, la plus grande le long de leur bord postérieur, le bord postérieur du scutellum et du post-scutellum, de grandes taches au propodéum.

Tergites en grande partie clairs, le bord postérieur des premiers plus ou moins obscurci, la base du premier avec une tache noire, la base des suivants étroitement noire; il y a deux petites ou très petites taches noires libres sur le 2^e tergite, parfois libres aussi sur le 3^e; sternites 1-3 avec une bande terminale claire, les suivants avec des taches latérales. Pattes très peu tachées de noir; les tibias 1 seulement avec une petite tache noire à leur face inférieure.

Les ♀ sont beaucoup plus foncées; une grande partie du clypéus est noire; la tache jaune du bas de la face manque souvent; pas de tache sous-ocellaire; stries orbitales étroites. Thorax presque entièrement noir, avec de petites taches claires au collare et aux tubercules huméraux. Abdomen avec 5 bandes glauques, la 1^{re} interrompue ou très rétrécie, les suivantes sinueuses; dernier tergite avec une ou deux taches; sternites 2 à 5 avec des taches aux angles postérieurs. Pattes plus foncées que chez le ♂.

Comme HANDLIRSCH (1893) et moi-même (1954a) l'avons noté, les spécimens de la Grande Canarie se distinguent de ceux de Tenerife par les dessins, d'extension à peu près semblables, de couleur jaune; par ce caractère, ils se rapprochent des individus marocains.

Bembix flavescens citrina Mercet

B. citrina Mercet 1905b, p. 353, ♂♀. Typ. Madrid. Loc. typ. Maroc.

MERCET indique comme origine Tanger et Mogador; la sous-espèce habite la région des dunes côtières de Tanger à Tiznit et se rencontre aussi sur la côte méditerranéenne, à Melilla. Elle a été citée sous les noms de *flavescens* Sm. (NADIG 1933) et *bolivari* Handl. (BISCHOFF 1934). J'ai étudié près de 150 spécimens.

Le dimorphisme sexuel chromatique est faible et les dessins sont d'un jaune franc, parfois un peu verdâtres chez certains ♂.

Chez le ♂, les dessins clairs de la tête sont un peu moins étendus que chez la race typique; la tache du bas de la face est moins développée, la tache sous-ocellaire généralement absente. Le thorax est nettement plus foncé: les taches jaunes du prothorax sont réduites; le mésonotum est noir ou taché à ses angles postérieurs seulement; les mésopleures montrent rarement une petite tache; le scutellum, le postscutellum et le propodéum sont noirs ou peu tachés. Sur l'abdomen aussi, les dessins noirs sont un peu plus

développés; les taches noires du 2^e tergite sont souvent soudées à la bande basale. Les taches noires des fémurs sont plus étendues; il y a souvent une tache noire à la face supérieure des tibias 2.

La ♀ n'est pas beaucoup plus foncée que le ♂ et elle a ainsi les dessins clairs en moyenne plus étendus que chez la race typique. Le clypéus est jaune ou montre deux taches noires à la base; le thorax est généralement peu taché. Les bandes abdominales sont assez larges; la première n'est pas interrompue; les taches du 2^e tergite sont rarement libres, mais elles font nettement saillie dans la bande jaune; dernier tergite à taches jaunes bien développées.

Les individus les plus méridionaux sont en moyenne les plus foncés.

Bembix flavescens fonti Mercet.

B. fonti Mercet 1905a, p. 342, ♂. ! Typ. Madrid. Loc. typ. Rio de Oro.

Cette race fait suite à la précédente vers le sud. Elle habite le Draa, la Saguia el Hamra et le Rio de Oro (GINER MARI 1945 a et b, 1947). GINER MARI a décrit la ♀; il cite du Rio Oro deux ♀ particulièrement foncées qui ne se rattachent pas sûrement à cette espèce. Les *oculata* cités par BERLAND (1943) de Villa Cisneros appartiennent en réalité à cette race de *flavescens*. J'ai examiné une dizaine de spécimens.

Comme chez *fl. citrina*, le thorax est noir ou taché de jaune aux tubercules huméraux et l'abdomen a des dessins jaunes bien développés. Ce qui caractérise avant tout cette race, c'est le faible développement des dessins jaunes de la tête; la face est noire ou avec d'étroites stries orbitaires seulement; le clypéus est noir avec le bord antérieur d'un jaune ferrugineux; labre jaune ou plus ou moins ferrugineux; scapes noirs ou très peu tachés de jaune. La pilosité argentée couchée du clypéus est très développée et apparaît très nettement sur les téguments foncés.

Bembix flavescens algeriensis Lohrm.

B. algeriensis Lohrmann 1942, p. 156, ♀. ! Typ. Vienne. Loc. typ. Algérie: Hassi Babah.

Contrairement aux autres races qui sont principalement côtières, celle-ci habite les Hauts-Plateaux algériens. Les 2 ♀ sur lesquelles la race est basée et que j'ai examinées ont été capturées à Hassi

Babah, sur la route de Boghari à Djelfa. Le Muséum de Paris possède 1 ♂ et 4 ♀ (1 ♀ dans ma coll.) se rattachant à cette sous-espèce, provenant d'El Kreider.

Il n'y a guère de dimorphisme sexuel chromatique; les dessins, d'un jaune doré, sont plus étendus sur la tête et le thorax que chez les races voisines, mais un peu moins développés, sur l'abdomen, que chez *fl. citrina*. Le bas de la face est largement taché de jaune; la tache sous-ocellaire est présente; les stries préoculaires, très larges, atteignent le vertex. Prothorax en grande partie jaune; des bandes sur les côtés du mésonotum et parfois de très étroites stries discales; une tache au bord postérieur des mésopleures (absente chez l'unique ♂); une large bande au bord postérieur du scutellum et du postscutellum et plusieurs taches au propodéum. Les bandes jaunes des tergites sont larges, mais un peu plus étroites qu'elles ne le sont généralement chez *fl. citrina*; le 6^e tergite de la ♀ est noir et ne montre que de petites taches jaunes; taches noires du 2^e tergite libres ou étroitement soudées; sternites relativement peu tachés.

Bembix flavescens inimica n. subsp.

FERTON (1911) donne des indications éthologiques sur un *Bembix* de la Calle, en Algérie orientale, qu'il nomme *B. inimica* Kohl. Cette espèce n'a à ma connaissance jamais été décrite, bien qu'il existe au Muséum de Vienne des individus désignés comme types. Je valide ici ce *nomen nudum* en donnant une description de cette forme, qui n'est qu'une race de *flavescens*. Les individus de La Calle (j'en ai vu une trentaine: Mus. Paris, Mus. Vienne, coll. mea), capturés par FERTON, seront décrits tout d'abord; j'ai désigné comme type 1 ♂ du Musée de Vienne, capturé le 25 septembre 1910.

Il n'y a pas de dimorphisme sexuel chromatique accentué; les dessins sont d'un jaune doré, en moyenne un peu plus développés sur la tête et le thorax que chez *fl. citrina*, mais plus réduits sur l'abdomen. Le clypéus est généralement entièrement jaune chez le ♂, taché de noir à la base chez la ♀; il y a souvent une petite tache sous-ocellaire jaune; les stries préoculaires n'atteignent pas le vertex. Il y a généralement d'assez nombreuses taches au prothorax, des taches aux angles postérieurs du mésonotum, des taches parfois réunies en bande, au bord postérieur du scutellum,

des taches au propodéum. Le 1^{er} tergite montre une bande en général très rétrécie au milieu; les tergites suivants sont ornés de bandes ondulées, assez étroites; les taches noires du 2^e tergite sont très largement soudées à la bande basale; dernier tergite de la ♀ noir; sternites peu tachés de jaune; fémurs assez largement tachés de noir. Cette description montre que les spécimens de La Calle ne diffèrent de ceux de l'Algérie centrale que par leurs dessins jaunes un peu moins développés sur toutes les parties du corps; certains individus, cependant, sont presque aussi clairs que ceux de la subsp. *fl. algeriensis*.

Cette race s'étend dans le nord de la Tunisie. J'ai vu 1 ♂ de Tunis (coll. GRANGER) et une ♀ de Monastir (Inst. ent. Zürich) semblables aux individus de La Calle.

J'ai examiné d'autre part un certain nombre de spécimens, provenant de diverses localités algériennes: Maison carrée (British Museum), Bône, Hussen Dey, Ain Oulmen, Arzeu, Nemours (Mus. Paris) dont certains sont semblables à ceux de La Calle et d'autres font transition vers *fl. citrina*. Chez une partie de ces individus, les dessins abdominaux ne sont pas jaunes, mais glauques; le matériel à disposition n'est pas suffisant pour savoir si cette variation de couleur est individuelle ou géographique.

Bembix flavescens kittyae n. subsp.

Cette sous-espèce a son aire d'extension comprise entre la Tunisie et le delta du Nil; j'ai examiné les individus suivants, dont certains ont été signalés sous le nom de *turca* (1956). Tunisie: Sfax 3 ♂ 4 ♀ (Mus. Paris); Ile Djerba, 1 ♂ (Mus. Paris). Tripolitaine: Gargaresc, Leptis Magna, Tagiura, 8 ♂ 5 ♀ (GUICHARD leg., British Museum, coll. mea), Wadi Kaan, 3 ♂ 4 ♀ (Ist. ent. Bologna, coll. mea); Egypte: Edku, près d'Alexandrie, 1 ♂ (British Museum). Cette race est citée encore, sous le nom de *turca*, de Tripoli et Bengazi (VON SCHULTHESS 1926) et de Giuliana, près Bengazi (GUIGLIA 1932). Je désigne comme type 1 ♂ de Gargaresc, 23 mai 1952 (coll. mea) et je me fais un plaisir de dédier cette nouvelle sous-espèce à M^{lle} Kitty PONSE, professeur à l'Université de Genève, rendant hommage à ses remarquables travaux dans divers domaines de la biologie.

Isolée entre deux races à dessins jaunes assez développés, cette sous-espèce est caractérisée par son mélanisme très accentué. Sont

d'un jaune clair sur la tête; les mandibules, le labre, le clypéus (à l'exception de sa partie basale), une petite tache sur le bas de la face et des stries pré- et postoculaires plus ou moins développées. Thorax noir à l'exception d'une petite tache jaune aux angles postérieurs du mésonotum. Abdomen entièrement noir. Scapes plus ou moins tachés de blanchâtre en dessous. Pattes en grande partie noires; les fémurs avec une tache apicale jaune plus ou moins développée à leur face antérieure; tibias 1 et 2 jaunes à la face antérieure; tibias 3 noirs ou plus ou moins tachés de jaune; tarses 1 en grande partie jaunes.

Il doit exister, soit en Tunisie, soit en Egypte, des individus plus ou moins tachés de jaune sur l'abdomen et faisant transition aux races voisines. Au Muséum de Paris se trouvent deux ♀ de Sfax, provenant comme les individus noirs cités ci-dessus de la collection VACHAL, et qui représentent probablement des formes de transition entre *fl. inimica* et *fl. kittyae*. La tête et le thorax sont colorés comme chez *fl. kittyae*; chez l'une de ces ♀, les tergites 1-5 portent des bandes glauques, assez larges; les tibias 3 sont plus fortement tachés de brun foncé que ce n'est généralement le cas chez *fl. inimica*. L'autre ♀ est plus foncée; elle a des bandes glauques, interrompues sur les tergites 1 et 4, continues, mais étroites, sur les tergites 2 et 3; tergites 5 et 6 noirs; fémurs presque entièrement noirs; tibias des 3 paires fortement tachés de brun noir. J'ai étiqueté ces deux individus « *B. flavescens trans ad. kittyae* ».

Bembix flavescens picturata ByS.

B. turca Dahlb. ssp. *picturata* Bytinski Salz, in DE BEAUMONT et BYTINSKI SALZ 1955, p. 49. ♂♀. ! Typ. Coll. BYTINSKI SALZ. Loc. typ. Israël: Bat Yam.

Cette race a été décrite d'après divers exemplaires de la zone côtière d'Israël; j'ai également étudié 2 ♂ et 2 ♀ de Beyrouth (Mus. Paris., coll. mea) et 2 ♂ 2 ♀ de Port-Saïd (Soc. entom. égypt., coll. mea).

Les individus du Liban et d'Israël sont colorés comme la sous-espèce *fl. inimica* d'Algérie; ceux de Port-Saïd ont les bandes abdominales jaunes un peu plus larges; les taches noires du 2^e tergite sont soudées à la bande basale, mais fortement saillantes.

Bembix flavescens bolivari Handl.

B. bolivari Handlirsch 1893, p. 860, ♂♀. ! Typ. Vienne. Loc. typ. Barcelone.

Dans sa description de *bolivari*, HANDLIRSCH cite des exemplaires de la France méridionale, d'Espagne, de Sicile, d'Algérie, de Tunisie et du Maroc; les individus nord-africains doivent maintenant être rattachés à d'autres sous-espèces. Je n'ai vu aucun *fl. bolivari* provenant d'Italie et je ne sais si la présence de cette forme en Sicile peut être considérée comme certaine. Le domaine de cette race est le S.-O. de la France et la péninsule ibérique, surtout dans la région côtière. J'ai étudié une trentaine d'individus, provenant de France: Le Grau du Roi, Palavas, Sète, Cap d'Agde, Vias; d'Espagne: Barcelone, Valence, Torreveja; du Portugal: Trafaria, Cova do Vapor. GINER MARI (1943) et DE ANDRADE (1949) citent d'autres localités de la péninsule ibérique. HANDLIRSCH n'avait, semble-t-il, pas désigné de type; j'ai désigné comme lectotype 1 ♂ de Barcelone (Mus. Vienne).

Il s'agit d'une race foncée, avec des bandes abdominales glauques (parfois un peu plus jaunes chez la ♀), rappelant la ♀ de *fl. flavescens* ou les formes glauques de *fl. inimica*. Clypéus souvent taché de noir à la base. Thorax généralement très peu taché de jaune: bandes abdominales étroites; la première très rétrécie au milieu; les suivantes sinueuses; les taches noires du 2^e tergite entièrement soudées, très peu saillantes dans la bande claire; 6^e tergite de la ♀ noir; 7^e tergite du ♂ souvent avec deux taches claires. Fémurs assez largement tachés de noir; tibias 1 tachés de noir en dessus et en dessous¹.

¹ Grâce à l'obligeance de M^{lle} D. GUIGLIA (Muséum de Gênes), j'ai reçu à l'examen, après avoir terminé la rédaction de ce travail, un ♂, provenant de la collection GRIBODO, avec une étiquette d'origine: «Calabria». Ce ♂ est tout à fait semblable aux individus à dessins glauques que j'ai cités d'Algérie (*fl. inimica*); la largeur de sa face, la denticulation très nette de ses fémurs 2, le faible développement du crochet du 2^e sternite l'éloignent en tous cas nettement de *fl. bolivari*. Il est possible, naturellement, que l'étiquette de provenance soit inexacte et que ce spécimen soit originaire de l'Afrique du nord. Si par contre il provient réellement de Calabre, il serait très intéressant de constater que la race de *flavescens* de cette région se rattache à celle de l'Algérie et non à celle de l'Europe du S.O. J'avais noté un cas semblable, témoin probable d'anciennes relations géographiques, pour *Philanthus raptor* Lep.

Variation des caractères morphologiques.

Il faudrait un très abondant matériel pour étudier de façon complète la variation de certains caractères morphologiques chez *B. flavescens*. Avec de petites séries seulement, il est souvent difficile de savoir ce qui relève de la variation individuelle et de la variation géographique. Ainsi, la densité de la ponctuation des sternites et des derniers tergites varie peut être en moyenne d'une sous-espèce à l'autre, mais le phénomène est masqué par une forte variation individuelle. Certains caractères sexuels du ♂, en particulier les appendices des sternites 2 et 6, sont sujets à la croissance dysharmonique, c'est-à-dire qu'ils sont proportionnellement beaucoup plus développés chez les grands individus (DE BEAUMONT 1943). Mais il m'est apparu que le coefficient de dysharmonie n'était probablement pas le même dans les diverses races; on n'observera donc pas toujours un développement semblable de ces caractères sexuels chez des ♂ de même taille, mais de provenances différentes.

Ceci dit, je puis néanmoins donner quelques utiles indications. La face est proportionnellement plus étroite par rapport à la largeur totale de la tête chez *fl. bolivari* que chez les autres races; le fait est particulièrement net chez les grands ♂. Le bord inférieur des fémurs 2 est presque lisse chez *fl. bolivari*, tandis qu'il est nettement denticulé chez les autres sous-espèces. Chez *fl. bolivari*, le crochet du 2^e sternite est presque toujours très fort, très saillant, avec un bord inférieur fortement arqué; la plateforme du 6^e sternite est fortement surélevée et son bord postérieur, en ogive, est très nettement limité. Une structure semblable des sternites 2 et 6 se retrouve chez les plus grands spécimens de *fl. citrina*; chez les autres races, et même chez les plus grands ♂, le crochet du 2^e sternite est moins saillant, à bord inférieur plus ou moins rectiligne et la plateforme du 6^e sternite est moins surélevée, avec un bord inférieur indistinctement limité, parfois un peu échancré. Je suppose qu'une étude plus poussée pourrait montrer une certaine variation géographique dans la structure détaillée de l'armature génitale, des derniers segments abdominaux du ♂ et peut être des articles des antennes; il ne me paraît pas utile de faire cette étude pour le moment.

Discussion sur les sous-espèces de B. flavescens.

Est-il justifié de considérer les diverses formes qui viennent d'être décrites comme sous-espèces et par contre de séparer spécifiquement *turca*? Pour la région de l'Afrique du nord et de la Méditerranée orientale, je n'ai guère de doutes: les diverses races sont vicariantes et d'une grande constance morphologique; d'autre part, l'on trouve entre certaines d'entre elles des formes intermédiaires. Il faut bien admettre par contre que *fl. bolivari*, la race européenne, présente quelques caractères morphologiques nettement distincts. Il ne semble pas qu'il y ait une certaine similitude entre les *fl. bolivari* du sud de la péninsule ibérique et les *fl. citrina* des régions proches de l'Afrique du nord; le détroit de Gibraltar forme une limite nette entre les deux formes. L'on n'a donc ici aucun critère objectif, et c'est affaire de convenance personnelle de savoir si l'on doit considérer *bolivari* comme espèce distincte ou comme sous-espèce; si j'ai adopté la deuxième solution, c'est qu'elle permet de mieux situer *bolivari* dans son cadre systématique; la similitude de l'armature génitale est un argument qui n'est certes pas péremptoire, mais cependant de valeur dans un groupe où les différences spécifiques de ces pièces sont en général nettes.

Pour un entomologiste qui connaît bien le groupe, il est évident que les différences morphologiques entre *turca* et *flavescens* sont nettement plus importantes que celles qui séparent *fl. bolivari* des autres sous-espèces de *flavescens*. Cet argument, sans doute en partie subjectif, m'incite à séparer spécifiquement *turca*; il faut aussi relever le fait que *turca* est probablement plus voisin d'une espèce asiatique dont je dirai deux mots plus loin, que de *flavescens*.

Si nous revenons aux sous-espèces africaines de *flavescens*, nous constatons que la race typique de Tenerife se trouve reliée aux races marocaines par les individus de la Grande Canarie; *citrina*, d'autre part, se relie facilement à *fonti*, *algeriensis*, *inimica* et *picturata*; la présence, au milieu de cet ensemble, de la race mélanique *kittyae* est par contre plus insolite. Je dois faire remarquer cependant que ce cas n'est pas isolé. Ainsi, *Cerceris teterrima* Grib. qui se trouve dans le sud algérien et la Tunisie, et dont la ♀ est entièrement noire, se rattache d'une part à *capito* Lep., d'Algérie, dont l'abdomen est ferrugineux et d'autre part à *spinipectus* spi-

nolica Schlett., d'Égypte, dont l'abdomen est en grande partie jaune. J'ai signalé de l'oasis de Siwa plusieurs races mélaniques de *Sphecidae* (1950). L'aire de distribution de ces formes mélaniques n'est pas toujours la même, mais se place généralement au voisinage de la Libye et elle se trouve située entre deux zones où des espèces ou sous-espèces voisines ont une coloration plus claire. On peut noter aussi que pour *flavescens*, la race noire habite la partie la plus saharienne de l'aire de distribution et nous devons constater une fois de plus que le milieu désertique est favorable, soit à des insectes très clairs soit au contraire à des formes mélaniques.

ESPÈCES VOISINES

Les deux espèces faisant l'objet de ce travail font partie du groupe d'*oculata*, que l'on peut brièvement caractériser de la façon suivante: sternites à ponctuation espacée; tempes étroites; vertex caréné; première nervure cubitale transverse fortement sinueuse; cellule anale de l'aile postérieure fermée par une nervure perpendiculaire; 2^e sternite du ♂ avec un crochet souvent très développé; partie postérieure du 7^e sternite étroite, avec trois carènes parallèles; lobes latéraux du 8^e tergite bien développés; valves de l'armature génitale étroites, sans appendice ventral; digitus courts et peu élargis à l'extrémité; crochets du pénis avec un lobe terminal. Dans le groupe voisin d'*olivacea*, la cellule anale de l'aile postérieure est aiguë à son extrémité inférieure (caractère qui m'a été indiqué par le Dr PRIESNER), le 2^e sternite du ♂ n'est armé que d'une carène longitudinale, l'extrémité du 7^e sternite est tectiforme avec une seule carène médiane, les pièces latérales du 8^e tergite sont très peu développées, les valves de l'armature génitale sont larges, plus ou moins échancrées avant l'extrémité, avec un appendice ventral, les digitus sont longs, élargis à l'extrémité, les crochets du pénis ont une pointe terminale. Dans la région paléarctique occidentale, le groupe d'*olivacea* comprend les espèces suivantes: *olivacea* F., *arenaria* Hdl., *dahlbomi* Handl., *chopardi* Berl. et *lusca* Spin. Dans la région paléarctique occidentale, le groupe d'*oculata* comprend, outre *turca* et *flavescens* quelques espèces dont j'indiquerai brièvement les caractères distinctifs.

Bembix oculata Latr.

Espèce très répandue sur le pourtour de la Méditerranée et s'étendant loin en Asie; elle présente une notable variation géographique. Elle se reconnaît à son clypéus sur lequel la ponctuation fine et dense atteint presque le bord antérieur; il ne reste donc, le long de celui-ci, qu'une très étroite bande semi-brillante, qui ne s'élargit pas au milieu comme chez les autres espèces du groupe. La face est plus large que chez *flavescens*, la ponctuation des sternites plus espacée, les articles du funicule plus courts, l'avant dernier moins dilaté chez le ♂. Les valves de l'armature génitale du ♂ sont plus aiguës à l'extrémité, les pièces latérales du 8^e sternite beaucoup plus larges. On peut noter aussi que chez *oculata*, à part la race de Chypre, les stries préoculaires sont très réduites ou absentes, les scapes noirs ou très peu tachés de jaune.

Bembix freygessneri Morice.

Espèce saharienne, voisine de *flavescens*, mais de plus petite taille; la ♀ s'en distingue par sa coloration claire en général plus étendue, sa face à pilosité plus abondante, son clypéus plus large. Le ♂ est bien caractérisé par les crochets du pénis fortement dilatés avant l'extrémité et par les fortes crêtes transversales aux angles postérieurs du 6^e sternite. *B. dissimilis* K., de Sokotra doit être considéré comme race foncée de *freygessneri*.

Bembix radoskowskyi Handl.

Une autre espèce saharienne de petite taille, dont la ♀ se reconnaît entre autres à la ponctuation forte et irrégulière du 2^e sternite. On identifiera le ♂ à ses mandibules à peine courbées et ne présentant au bord interne qu'une dent rudimentaire, à la plateforme du 6^e sternite, faiblement surélevée, arrondie en arrière et sans limites nettes et à l'avant dernier article des antennes non dilaté au bord interne.

Bembix melanura Moraw.

J'ai signalé (1957) sous ce nom un ♂ d'Iran et j'ai examiné un ♂ semblable de Syrie; l'espèce existe aussi en Egypte. Est-ce

bien le *melanura* de MORAWITZ? Je n'en suis pas certain. Par la structure de ses 2^e, 6^e et 7^e sternites et par les valves de son armature génitale, ce ♂ est très voisin de celui de *turca*; il s'en distingue par la coloration plus claire, les scapes encore plus renflés, les avants derniers articles des antennes plus larges, le dernier article plus largement tronqué, les pièces latérales du 8^e tergite plus larges, les volselles plus épaisses à l'extrémité.

TRAVAUX CITÉS

- DE ANDRADE, N. F. 1949. *Esfecidos de Portugal (Hym. Sphecidae)*. Mem. Estud. Mus. zool. Univ. Coimbra N° 194: 1-27.
- DE BEAUMONT, J. 1943. *Systématique et croissance dysharmonique*. Mitt. schweiz. ent. Ges. 19: 45-52.
- 1950. *Résultats de l'expédition de l'Armstrong College à l'oasis de Siwa (désert libyque), 1935, sous la direction du professeur J. Omer Cooper. Sphecidae (Hymenoptera)*. Bull. Soc. Fouad I^{er} Entom. 34: 1-21.
- 1951. *Hyménoptères recueillis par une mission suisse au Maroc (1947). Sphecidae I*. Bull. Soc. Sc. nat. Maroc 29 (1949): 259-284.
- 1953. *Contribution à l'étude du peuplement de la Mauritanie. Hyménoptères Sphecidae*. Bull. Inst. français Afrique Noire 15: 171-177.
- 1954a. *Contributions entomologiques de l'expédition finlandaise aux Canaries 1947 1951. N° 8. Sphecidae*. Comment. biol. 14, N° 8: 1-6.
- 1954b. *Remarques sur la systématique des Nyssoninac paléarctiques*. Rev. suisse Zool. 61: 283-322.
- 1956. *Sphecidae récoltés en Libye et au Tibesti par M. Kenneth M. Guichard*. Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Entom. 4: 165-215.
- 1957. *Sphecidae du nord de l'Iran (Hym.)* Mitt. schweiz. ent. Ges. 30: 127-139.
- DE BEAUMONT, J. et BYTINSKI-SALZ, H. 1955. *The Sphecidae of Erez Israel I*. Bull. Research Council Israel 5: 32-60.
- BERLAND, L. 1943. *Récoltes entomologiques faites par L. Berland à Villa Cisneros (Rio de Oro). Hyménoptères*. Bull. Muséum Paris, 2^e sér. 15: 311-317.
- BISCHOFF, H. 1934. *Inventa entomologica itineris Hispanici et Maroccani, quod a 1926 fecerunt Harald et Hakan Lindberg. XV. Chrysididae, Cleptidae, Scoliidæ, Tiphiidae, Methocidae, Sapygidae, Sphecidae, Masaridae, Vespidae*. Comment. biol. 4, N° 3: 1-7.

- DAHLBOM, A. G. 1843-45. *Hymenoptera europaea praecipue borealia. I. Sphecx.*
- FERTON, Ch. 1911. *Notes détachées sur l'instinct des Hyménoptères mellifères et ravisseurs. 7^e série.* Ann. Soc. ent. France 80: 351-412.
- GINER MARI, J. 1943. *Bembex paleárticos II. Monografía de los Bembex F. de España.* Eos 19: 7-50.
- 1945a. *Resultados de un viaje entomológico al Sáhara español y zona oriental del Marruecos español. Familias Sphecidae y Mutillidae.* Eos 20: 351-365.
- 1945b. *Himénópteros del Sáhara español. Familias: Sphecidae, Psammocharidae, Apterogynidae y Mutillidae.* Eos 21: 215-257.
- 1947. *Himénópteros del Sáhara español III. Familias: Sphecidae, Apterogynidae, Mutillidae y Psammocharidae.* Eos 23: 17-31.
- GUIGLIA, D. 1932. *Spedizione scientifica all'oasi di Cufra. Imenotteri aculeati.* Ann. Mus. Stor. nat. Genova 55: 466-486.
- HANDLIRSCH, A. 1893. *Monographie der mit Nysson und Bembex verwandten Grabwespen. Bembex.* Sitzber. k. Akad. Wiss. Wien. Abt. 1. 102: 657-942.
- LOHRMANN, E. 1942. *Neue Bembix-Arten des Wiener Naturhistorischen Museums.* Ann. Nathist. Mus. Wien 55 (1941): 155-160.
- MERCET, R. G. 1950a. *Una Bembex de Rio de Oro.* Bol. Soc. esp. Hist. nat. 5: 342.
- 1905b. *Bembex nuevas de Africa.* Ibid. 5: 352-355.
- NADIG AD. sen. et jr. 1933. *Beitrag zur Kenntniss der Hymenopteren von Marokko und Westalgerien. Erster Teil: Apidae, Sphegidae, Vespidae.* Jahresb. Naturforsch. Ges. Graubündens 71: 37-105.
- VON SCHULTHESS, A. et ROTH, P. 1926. *Contribution à la connaissance de la faune des Hyménoptères de l'Afrique du Nord. 2^e partie. Fossores.* Bul. Soc. Hist. nat. Afr. N. 17: 206-219.
- SMITH, F. M. 1856. *Catalogue of Hymenopterous Insects in the Collection of the British Museum*, vol. 4, London.
-

L'intoxication alloxanique chez la femelle gravide de Cobaye

3. Effets de l'alloxane sur le foie de la mère et du fœtus

par

Anne Marie DU BOIS

Institut d'histologie et d'embryologie, Ecole de médecine, Genève.

*Au professeur Kitty Ponse, en l'honneur
de son 60^e anniversaire, en hommage amical.*

Le foie est particulièrement sensible à l'intoxication alloxanique. Chez le Chien, elle provoque une infiltration graisseuse très prononcée du lobule hépatique (W. CREUTZFELT 1949; M. GOLDNER et G. GOMORI 1943) qui peut conduire, dans les cas extrêmes, à une nécrose centrolobulaire (B.-A. HOUSSAY et ses collaborateurs 1946, 1947). Chez le Lapin (P. HERBERT, J.-S. WATSON et E. PERKINS 1946) et chez le Rat (G. GOMORI et M. GOLDNER 1947; P. DESCLAUX et ses collaborateurs 1949), l'alloxane provoque également une dégénérescence graisseuse de la cellule hépatique, aboutissant à la formation de plages nécrotiques, plus ou moins étendues, dans la région périportale. Ces altérations apparaissent quelques heures après une seule injection d'alloxane, mais elles ne sont que passagères; des processus de régénération interviennent rapidement et le foie reprend son aspect normal en quelques jours.

Nous avons montré que, chez le Cobaye mâle (A.-M. Du Bois 1954 *a* et *b*, A.-M. Du Bois et J. SCHERRER 1954), l'intoxication alloxanique provoque, dans le foie, des lésions caractéristiques qui diffèrent en plusieurs points de celles décrites chez les autres ani-

maux. Les altérations débutent, dans la zone périlobulaire, par une stase sanguine très prononcée, rapidement suivie d'une destruction de l'endothélium des capillaires et d'une « vacuolisation aqueuse » des cellules hépatiques. La lyse des cellules hépatiques altérées détermine la formation de cavités nécrotiques périlobulaires, plus ou moins vastes, qui sont rapidement comblées par des processus de régénération dès que l'intoxication alloxanique cesse d'agir.

Le but de notre travail est de rechercher si le foie de la femelle de Cobaye gravide réagit à l'intoxication alloxanique comme le

TABLE 1

N° des femelles	Nombre de fœtus	Taille en mm des fœtus	Age en jours des fœtus	Durée d'action de l'alloxane
482	2	20	29/30	24 h.
458	5	27/31	34	24 h.
499	4	28	34	54 h.
770	2	28	34	24 h.
744	2	30	35/36	14 h.
488	4	38/42	37	10 h.
923	3	53	41/42	72 h.
731	2	48/59	42/43	3 h.
733	3	56/57	42/43	46 h.
456	3	58/60	43	48 h.
911	3	64/66	47/48	10 h.
915	2	65	47/48	34 h.
493	3	62/68	48/49	48 h.
427	3	68/75	49	24 h.
490	3	70/74	49	36 h.
919	3	74	49/50	34 h.
481	1	75	49/50	20 min.
465	4	73/80	50/51	24 h.
717	1	80	53/54	14 h.
736	2	80	53/54	6 h. 30
440	4	85/90	55/56	23 h.
476	3	90/95	61	23 h.
494	1	105	64/65	48 h.
473	3	110/120	66	24 h.
453	1	120	67/68	20 h.
483	1	120	67/68	48 h.
463	2	125/130	69/70	40 min.
27 ♀	70 fœtus			

Dans la colonne de la taille, deux chiffres indiquent la taille minima et maxima des fœtus de la même portée.

La durée d'action de l'alloxane n'a pu être systématiquement prévue, les femelles ayant parfois dû être sacrifiées parce qu'elles manifestaient les symptômes d'un avortement imminent.

foie du mâle et si l'alloxane est capable de passer la barrière placentaire et de produire des lésions hépatiques chez le fœtus.

Nous avons utilisé, pour nos expériences, 27 femelles de Cobayes gravides, entre le 30^e et le 70^e jour (veille de la mise bas) de la gestation. Chaque femelle a reçu, en une injection intracardiaque, 200 mgr/kg d'alloxane (monohydrate d'alloxane, Hoffmann La Roche) et a été sacrifiée de 20 minutes à 72 heures après l'injection (table 1). Les foies des 27 femelles gravides et des 70 fœtus ont été fixés au liquide de Dubosq-Brazil et au formol; colorés à l'hématoxyline-éosine et à l'azan pour l'étude topographique, au carmin de Best et au Bauer pour la recherche du glycogène, et au Soudan et au bleu de B.Z.L. pour la recherche des graisses.

1. ALTÉRATIONS DU FOIE DE LA FEMELLE GRAVIDE.

Chez la femelle gravide, nous avons retrouvé les mêmes types de lésions que chez le Cobaye mâle avec quelques petites variantes, en relation avec la gestation, que nous signalerons en passant.

Dans le cas du foie, comme dans ceux du placenta et du pancréas (A.-M. Du Bois 1957 *a* et *b*), une même dose d'alloxane (200 mgr/kg en une injection par voie intracardiaque) agissant pendant le même nombre d'heures, provoque des lésions d'amplitude très variable suivant les individus. Ici encore, l'explication doit être recherchée d'une part dans une résistance individuelle, de degré variable, à l'intoxication alloxanique et d'autre part, dans les modifications chimiques subies par l'alloxane *in vivo* après l'injection.

De plus, dans le foie du même animal, le degré d'altération n'est pas identique dans tout l'organe. Des plages nécrotiques, plus ou moins volumineuses, sont dispersées dans le tissu sain. Le « foie alloxanique » se reconnaît facilement à l'autopsie déjà. Si les lésions sont peu étendues, le foie de couleur normale rouge foncé présente par ci et par là des zones irrégulières d'un blanc brunâtre. Lorsqu'il est très altéré, il est hypertrophié, de couleur blanc brunâtre avec des plaques hémorragiques plus ou moins importantes. Entre ces deux extrêmes, on peut naturellement trouver toutes les phases intermédiaires, inhérentes à l'architecture anatomique en lobes séparés du foie de Cobaye: un lobe hypertrophié blanc brunâtre, les autres lobes encore rouge foncé avec

plages nécrotiques plus ou moins importantes, etc. A la coupe, le foie altéré est mou et d'aspect spongieux. Cette image macroscopique se retrouve naturellement à l'échelle microscopique et, même parfois, une région hépatique qui paraissait saine à l'autopsie révèle, sur coupe, un ou plusieurs lobules plus ou moins altérés entourés de lobules parfaitement normaux. Ces altérations localisées traduisent évidemment des différences d'ordre fonctionnel dans les différentes régions du foie, voire même dans les différents lobules hépatiques.

L'action de l'alloxane se manifeste, déjà 20-40 minutes après l'injection (♀ 481 et ♀ 463), par une stase sanguine et l'affluence dans le sang circulant de granulocytes polynucléaires et de monocytes. Cette mobilisation de cellules phagocytaires sanguines au niveau du foie se maintient pendant 48 heures environ; elle est fréquemment accompagnée de quelques granulocytes éosinophiles. Dans le foie de la femelle gravide, le nombre des phagocytes paraît constamment moindre que dans celui du mâle. Cette constatation ressort de l'examen de nombreuses coupes de foies alloxaniques, présentant des lésions de même amplitude approximative, les uns provenant de mâles, les autres de femelles gravides. Sans faire une numération précise de ces éléments, nous avons toujours observé que dans le foie d'un mâle, les phagocytes sont en paquets beaucoup plus denses que dans celui de la femelle gravide. Cette différence doit probablement être en relation avec le fait que chez la femelle gravide un très grand nombre de phagocytes sont mobilisés en même temps par le placenta.

Les lésions hépatiques provoquées par l'alloxane débutent toujours dans la région périlobulaire. Elles intéressent à la fois le réseau vasculaire et les cellules hépatiques. Nous les décrirons séparément afin d'assurer la clarté de notre exposé.

a) *Réseau vasculaire.*

Les premiers signes d'altération du réseau capillaire se manifestent, chez la femelle gestante comme chez le mâle, par la pycnose des noyaux et la disparition rapide des cellules endothéliales. Dans certains lobules d'apparence normale, on remarque autour des espaces de Kiernan, une zone plus ou moins étendue où les noyaux endothéliaux font complètement défaut. Nous n'avons jamais

observé une mobilisation des cellules endothéliales, comparable à celle décrite chez le Rat par F. MOYSON (1953) dans les altérations hépatiques consécutives à un traumatisme; dans ce cas, les cellules endothéliales se libéreraient de la paroi et passeraient dans la circulation. L'intoxication alloxanique semble détruire sur place les cellules endothéliales. L'armature de fibrilles grillagées périendothéliales cède rapidement et la rupture des capillaires provoque de petites hémorragies intra-tissulaires d'abord discrètes et qui vont en s'aggravant.

Cette destruction progressive des capillaires, débute très rapidement, puisque 40 minutes déjà après l'injection, nous avons constaté (♀ 463) ¹ les premières pycnoses endothéliales. La destruction par pycnose des noyaux endothéliaux n'est que le terme extrême de l'altération provoquée par l'alloxane sur les cellules endothéliales. Mais avant que le processus pycnotique n'intervienne, les cellules ont déjà subi des altérations non décelables microscopiquement mais qui se traduisent à l'échelle physiologique. Nous avons en effet montré chez le Cobaye mâle (A.-M. Du Bois 1954) que sous l'effet de l'alloxane, les cellules endothéliales perdent leurs propriétés athrocytaires. Une injection d'alloxane intracardiaque suivie 24 heures plus tard d'une injection intracardiaque d'encre de Chine donne l'image caractéristique suivante: une hémorragie périportale plus ou moins étendue avec destruction totale des endothéliums, entourée d'une marge plus ou moins épaisse dans laquelle les noyaux endothéliaux sont tous pycnotiques. Entre cette zone à endothéliums pycnotiques et la région non altérée, dans laquelle les cellules endothéliales sont bourrées de granulations de charbon, s'étend une zone souvent assez épaisse, dans laquelle les cellules endothéliales n'ont pas capté les granulations de charbon, bien que leurs noyaux paraissent tout à fait normaux. Cette perte de la faculté d'athrocytose trahit une modification profonde des processus physiologiques intracellulaires et on peut supposer qu'à ce niveau, les échanges entre le sang circulant dans les capillaires et les cellules hépatiques sont eux aussi modifiés.

¹ Dans notre travail sur le Cobaye mâle (A. M. Du Bois 1954), nous avons constaté cette dégénérescence du réseau capillaire, chez l'individu sacrifié le plus rapidement, soit 4 h. après l'injection. Il est probable que chez le cobaye mâle aussi les premiers signes d'altération du réseau capillaire sont beaucoup plus précoces.

La destruction pycnotique des endothéliums se propage en direction centrolobulaire, détruisant dans les cas extrêmes la paroi de la veine centrolobulaire. La ramification de la veine porte, dans l'espace périlobulaire est également attaquée, mais la pycnose endothéliale apparaît toujours plus tardivement que dans tous les capillaires périportaux; elle est rapidement suivie d'une destruction de la mésoveine et du conjonctif environnant et le vaisseau s'ouvre dans les lacunes hémorragiques périlobulaires.

Les artères hépatiques résistent mieux à l'alloxane. Nous avons trouvé à plusieurs reprises, dans un espace de Kiernan à peu près détruit (veine périlobulaire éventrée, canalicules biliaires plus ou moins lysés) une artériole encore en bon état.

Cette différence entre la résistance à l'intoxication alloxanique de l'endothélium des capillaires hépatiques d'une part et de celui des artères et des veines d'autre part, marque une fois de plus, que ces endothéliums morphologiquement presque identiques sont, du point de vue physiologique, très dissemblables. L'endothélium des capillaires, lieu de passage de tous les échanges entre la cellule hépatique et le sang, à fonction athrocytaire très active est plus fragile vis-à-vis de l'alloxane que l'endothélium banal des vaisseaux sanguins.

b) *Cellules hépatiques.*

Chez la femelle de Cobaye gravide, comme chez le mâle (A.-M. Du Bois 1954), l'injection d'alloxane provoque rapidement des altérations importantes des cellules hépatiques. Ces altérations débutent dans la zone périlobulaire, 40 minutes déjà après l'injection (463). Toutes les cellules de la zone périportale, dans de nombreux lobules, sont bourrées de petites vacuoles. Cette forme de dégénérescence hépatique dite « vacuolisation aqueuse » a été étudiée expérimentalement par O.-A. TROWELL (1946) et K. ATERMAN (1952-1955) sur le Rat, le Cobaye, le Singe. Les vacuoles renferment un liquide non colorable par les colorants spécifiques des graisses et du glycogène et qui donne des cristaux de glace lors que la pièce est congelée (d'où le nom de « watery vacuoles »).

Ce type de dégénérescence est déclenché par diverses causes: anoxémie (P. FLORENTIN et coll. 1944), intoxications diverses, augmentation de la pression sanguine intrahépatique, etc. Chez

la femelle gravide, comme chez le mâle, la vacuolisation des cellules hépatiques consécutive à l'injection d'alloxane est un phénomène constant (fig. 2). La disparition des capillaires, provoque la dissociation des travées de Remack. Les cellules hépa-



FIG. 1.

Foie maternel, 3 h. après 1 injection intracardiaque
de 200 mgr/kg d'alloxane.

Cavité nécrotique périlobulaire. paroi de la veine porte rompue, canalicule biliaire et artériole hépatique encore non altérés (femelle 731. Gross. $\times 35$).

tiques libérées, arrondies, s'hypertrophient, les vacuoles s'accroissent, confluent les unes avec les autres, refoulant le noyau à la périphérie de la cellule; le noyau devient pycnotique et la cellule disparaît par lyse.

Trois heures après l'injection (731), la zone périlobulaire de nombreux lobules présente des cavités nécrotiques irrégulières, bourrées de sang et de débris cellulaires en voie d'être phagocytés par les nombreux granulocytes neutrophiles (fig. 1). En bordure de la cavité, les cellules hépatiques sont fortement vacuolisées, plus ou moins lysées et les parois des capillaires totalement détruites (fig. 2). En suivant la coupe en direction centrolobulaire, les capillaires à noyaux pycnotiques bordent des cellules hépatiques encore fortement vacuolisées, mais à noyau normal plus ou moins central.

Au-delà, les endothéliums des capillaires paraissent normaux, mais les cellules hépatiques sont encore bourrées de petites vacuoles, dont le nombre décroît au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la zone nécrotique.

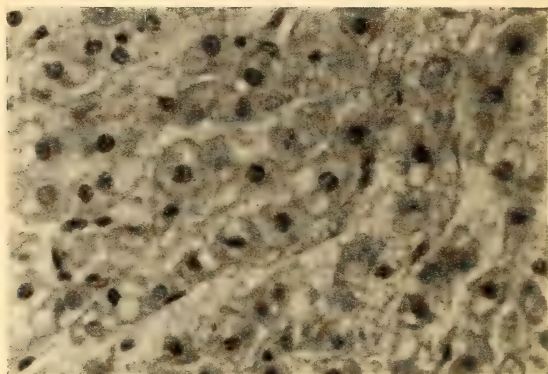


FIG. 2.

Foie maternel, 3 h. après 1 injection intracardique de 200 mgr/kg d'alloxane.

« Vacuolisation aqueuse » des cellules hépatiques et disparition des cellules endothéliales (femelle 731. Gross. $\times 320$).

La vacuolisation aqueuse des cellules hépatiques résulte de l'altération de la paroi des capillaires. L'intoxication alloxanique agit en premier lieu sur les cellules endothéliales; elle modifie vraisemblablement leur perméabilité facilitant ainsi le passage de liquide dans les cellules hépatiques. Rappelons que O.-A. TROWELL (1946) a obtenu expérimentalement une « vacuolisation aqueuse » généralisée du foie, chez le Rat et le Cobaye, en augmentant la pression sanguine intrahépatique par ligature de la veine sus-hépatique. Sous l'effet de la pression sanguine, la perméabilité des capillaires est augmentée en direction des cellules hépatiques qui deviennent très rapidement vacuolaires. Lorsque la pression diminue (relâchement de la ligature), la vacuolisation des cellules hépatiques régresse presque instantanément.

Dans le cas de l'intoxication alloxanique, la stase sanguine constatée au niveau du foie, n'est pas à elle seule responsable de la vacuolisation des cellules hépatiques. Il y a en effet une véri-

table altération de la cellule endothéliale qui se manifeste par la perte de l'activité athrocytaire, suivie de la pycnose du noyau, pour aboutir, au stade de l'intoxication, à la disparition de la cellule endothéliale.

La vacuolisation de la cellule hépatique semble être un phénomène secondaire, consécutif à l'altération des endothéliums, elle doit cependant, dans le cas de l'intoxication alloxanique, différer de la simple « vacuolisation aqueuse ». Dans les expériences de TROWELL, la vacuolisation régresse, dès que les conditions de pression normale sont rétablies. Avec l'alloxane, les cellules hépatiques vacuolisées sont destinées à disparaître par lyse, même quand le réseau capillaire est rétabli par régénération (voir plus loin). Il semble donc bien que l'agent toxique (alloxane ou ses dérivés) passe dans la cellule hépatique. Cette destruction du parenchyme hépatique par vacuolisation, puis lyse des cellules a été observée sans exception chez les 17 femelles gravides sacrifiées au cours des 3-24 heures suivant l'injection d'alloxane. Le processus est constamment le même, mais l'étendue des plages nécrotiques varie d'un animal à l'autre et dans le même foie, elle varie d'un lobule à l'autre.

En comparant les effets de l'intoxication alloxanique sur le foie de Cobaye de la femelle gravide et du mâle, nous avons cependant constaté certaines différences d'ordre qualitatif. D'une manière générale, chez le mâle, les cavités nécrotiques sont plus volumineuses et la bordure des cellules hépatiques vacuolisées moins épaisse que chez la femelle gravide. Chez cette dernière en effet, après l'injection (par exemple 465, 24 h.), les plages de nécrose périlobulaire proprement dite sont souvent très réduites alors que la zone à cellules hépatiques vacuolisées s'étend quasi jusqu'à la veine centrolobulaire. Chez le mâle, lorsque la vacuolisation atteint les cellules hépatiques centrolobulaires, toute la zone périlobulaire n'est qu'une vaste cavité nécrotique très irrégulière.

L'explication de cette différence doit peut-être être recherchée dans le fait signalé plus haut : chez la femelle gravide, la migration de phagocytes (granulocytes neutrophiles et monocytes) dans le foie est nettement moins massive que chez le mâle. Par conséquent, les processus de phagocytose des cellules altérées seraient plus lents et la formation de cavités nécrotiques étendues retardée chez la femelle gravide.

Les premiers signes de la régénération hépatique se manifestent 20-24 heures après l'injection d'alloxane, chez la femelle gravide comme chez le mâle. Ils sont au début discrets et le processus est nettement moins rapide que chez le mâle.

Les cellules hépatiques saines, non vacuolisées, en bordure de la lésion se multiplient par mitose et comblent progressivement les lacunes nécrotiques au fur et à mesure que les dernières cellules à grosses vacuoles sont lysées.

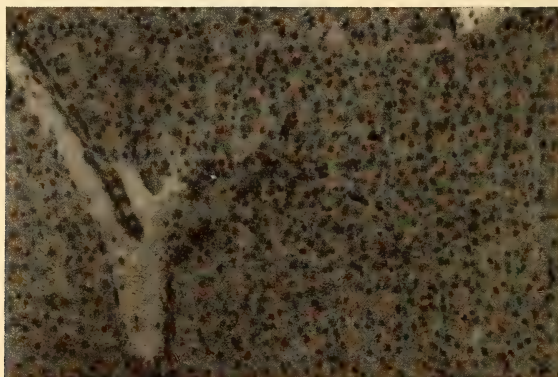


FIG. 3.

Foie maternel, 48 h. après 1 injection intracardiaque de 200 mgr/kg d'alloxane.

Régénération hépatique avancée: quelques cellules hépatiques encore vacuolaires, rétablissement du réseau capillaire par bourgeonnement de petites cellules à partir de l'espace de Kiernan (femelle 494. Gross. $\times 40$).

Des bourgeons de régénération (fig. 3) formés de petites cellules à noyau ovoïde, très chromatique, souvent en mitose, se différencient en bordure des espaces de Kiernan plus ou moins altérés et prolifèrent, en longues trainées entre les cellules hépatiques néoformées. Ces bourgeons donnent naissance à de nouveaux espaces de Kiernan, souvent en position aberrante, non périlobulaire, et au réseau capillaire (733, 48 h. après l'injection).

Quarante-huit heures après l'injection, la plupart des zones nécrotiques sont comblées, il ne reste plus que quelques petits amas de cellules vacuolisées en voie de disparition. Chez la femelle 923, sacrifiée 72 heures après l'injection, le foie est tout à fait

normal, seule la situation aberrante de certains espaces de Kiernan trahit l'existence antérieure de lésions hépatiques.

Glycogène hépatique.

S. DUCOMMUN (9150) a montré que chez la femelle gravide, la teneur en glycogène du foie est constamment élevée, tout spécialement pendant le deuxième tiers de la gestation.

Le fait de mettre les animaux à jeun 24 heures avant l'injection d'alloxane a toujours eu pour conséquence de vider le foie de sa réserve glycogénique. En effet, sur les 17 femelles gravides sacrifiées de 40 minutes à 24 heures après l'injection, 14 avaient des foies totalement dépourvus de glycogène et 3, des traces de glycogène dans la zone centrolobulaire de quelques lobules (du moins dans les régions prélevées qui sont toujours au voisinage immédiat des lésions décelables macroscopiquement.

La réapparition de la réserve glycogénique après l'arrêt du jeûne (c'est-à-dire immédiatement après l'injection d'alloxane) est également très lente. Chez 8 femelles gravides sacrifiées 24-72 heures après l'injection, la teneur en glycogène était toujours extrêmement faible, voire inexistante; chez une seule femelle (733), 48 heures après l'injection, la surcharge normale de glycogène était rétablie.

Ce métabolisme du glycogène hépatique chez la femelle gravide est assez différent de celui du mâle, dans les mêmes conditions expérimentales.

Dans les conditions normales, la réserve glycogénique du foie est beaucoup plus élevée chez la femelle gravide et sa disparition sous l'effet du jeûne de 24 heures beaucoup plus radicale que chez le mâle. Chez ce dernier, dès la cessation du jeûne, le glycogène réapparaît rapidement dans le foie et 24 heures après l'injection d'alloxane en général, la réserve de glycogène hépatique normale est reconstituée.

Dans nos expériences antérieures sur le Cobaye mâle (A.-M. Du Bois 1954), nous avons montré que l'importance des lésions hépatiques provoquées par l'alloxane est en relation directe avec la quantité de glycogène contenue dans le foie. Le glycogène paraît exercer une action protectrice contre l'intoxication alloxanique, les lésions étant constamment moins importantes dans les foies riches en glycogène.

Chez la femelle gravide, la disparition massive du glycogène et sa réapparition ralentie n'ont pas permis de constater cette action protectrice du glycogène vis-à-vis de l'intoxication alloxanique. La seule femelle (733) qui 48 heures après l'injection possédait une surcharge glycogénique normale avait un foie presque complètement régénéré avec espaces de Kiernan en position aberrantes et des ilots de cellules hépatiques vésiculeuses en voie de dégénérescence, mais qui ne permettaient pas de supputer de l'étendue des lésions 42-24 heures auparavant. Seul le fait de la régénération très avancée permet de supposer que les lésions n'étaient pas très importantes.

Signalons que chez la femelle gravide, comme chez le mâle, certains granulocytes neutrophiles présentent souvent des granulations de glycogène. Dans un foie très délabré par l'intoxication alloxanique, ce sont souvent les seules cellules qui donnent une réaction positive au carmin de Best ou au Bauer.

Enfin, dans les bourgeons de régénération qui émanent des espaces de Kiernan, il y a constamment un peu de glycogène.

Graisse hépatique.

Les différents auteurs qui ont étudiés les effets de l'alloxane sur le foie ont toujours constaté une forte augmentation de la graisse hépatique aboutissant à des processus de dégénérescence graisseuse plus ou moins localisés.

Ainsi W. CREUTZFELDT (1949), M. GOLDNER et G. GOMORI (1953) ont décrit, chez le Chien une infiltration graisseuse très prononcée du lobule hépatique et B.-A. HOUSSAY et ses collaborateurs (1946-1947) chez le même animal une véritable dégénérescence graisseuse aboutissant à des nécroses centrolobulaires; P. HERBERT, J.-S. WATSON et E. PERKINS (1946) ont signalé chez le Lapin une dégénérescence graisseuse de la zone centrolobulaire et des nécroses périportales plus ou moins étendues. G. GOMORI et M. GOLDNER (1947) et P. DESCLAUX et ses collaborateurs (1949) ont également observé une dégénérescence graisseuse avec altérations pycnotiques du noyau et nécroses, chez le Rat. Tous ces travaux ont conduit à l'idée généralement admise, que l'alloxane déclenche dans le foie des processus de dégénérescence graisseuse.

Le Cobaye fait nettement exception à la règle. Rappelons tout d'abord, que chez le Cobaye normal, la teneur en graisse du foie

est toujours minime, beaucoup moindre que dans les espèces animales signalées plus haut. La gravidité ne modifie guère cet état de chose; S. DUCOMMUN (1950) a en effet montré que durant toute la gestation, le foie de la femelle ne renferme que très peu de graisse. Dans ces conditions, il n'est pas très surprenant que le foie de cobaye ne réponde pas à l'intoxication alloxanique par une dégénérescence graisseuse massive des lobules hépatiques.

Chez toutes les femelles gravides traitées par l'alloxane, la coloration des graisses hépatiques par le soudan et le bleu de B.Z.L. donne une image comparable à celle décrite dans le foie du mâle. Dans les lobules sains, parfois un peu de graisse sous forme de très fines gouttelettes dans les cellules hépatiques de la marge tout à fait périphérique de la zone périlobulaire, mais le plus souvent, la graisse fait complètement défaut.

Dans les lobules altérés, en bordure des cellules vacuolisées, on trouve par places quelques cellules renfermant de la graisse. Cette graisse, répartie en grosses gouttelettes est évidemment une image atypique pour le Cobaye, mais le noyau central, sans trace visible d'altérations ne permet guère d'affirmer qu'il s'agit d'une véritable dégénérescence graisseuse. En tous cas elle est toujours discrète; dans 3 cas seulement, ces cellules à surcharge lipidique étaient assez nombreuses pour former une mince auréole presque continue autour d'une lésion.

Le contenu des vacuoles des cellules altérées ne se colore jamais par les colorants des graisses. Il faut cependant signaler que, avec le bleu de B.Z.L., le cytoplasme des cellules vacuolisées prend une coloration légèrement bleutée qui révèle, à l'immersion, de très fines granulations (vacuoles?) à la limite de la visibilité (456, 48 heures après l'injection, par exemple) très difficilement décelables par la coloration au soudan; chez la femelle 440 enfin (22 heures après l'injection), les cellules vacuolisées de la périphérie de la lésion montrent dans leur cytoplasme de véritables granulations brunâtres extrêmement fines.

Chez la femelle de Cobaye gestante, l'intoxication alloxanique ne provoque certainement pas dans nos conditions expérimentales ¹

¹ Chez les animaux, où l'alloxane provoque une dégénérescence graisseuse typique des cellules hépatiques, la quantité d'alloxane injectée, la voie d'injection, la durée de l'expérience varient d'un auteur à l'autre et sont souvent très différentes des nôtres.

une dégénérescence graisseuse typique des cellules hépatiques avec une gouttelette de graisse énorme qui distend la cellule en refoulant le noyau à la périphérie, mais elle agit probablement quand même sur le métabolisme des lipides; son action se traduit par une certaine accumulation de graisse dans les cellules hépatiques en bordure des lésions et même dans les granulations, — décelables au bleu de B.Z.L., — du cytoplasme de certaines cellules vacuolaires. Il nous est impossible de dire si les fines granulations brunâtres observées chez la femelle 440 sont de nature lipochrome.

On pourrait critiquer nos résultats en supposant que la brièveté de nos expériences (3 jours au maximum) n'est pas suffisante à l'établissement d'une véritable dégénérescence graisseuse hépatique. Avec une injection unique d'alloxane, la critique tombe puisque les processus de régénération débutent 24 heures après l'injection et que 48 heures ou au plus 72 heures plus tard, les lésions ont complètement disparu. Nous ne savons évidemment pas ce que produiraient dans le foie de Cobaye des injections répétées de 24 en 24 heures de doses plus faibles d'alloxane.

Notons pour terminer, que les cellules des bourgeons de régénération contiennent souvent un peu de graisse.

c) *Conclusions.*

L'alloxane, injectée par voie intracardiaque à raison de 200 mg/kg en une seule injection provoque dans le foie de la femelle gestante des lésions caractéristiques très comparables à celles observées chez le mâle avec la même dose d'alloxane. 20-40 minutes après l'injection, on observe une stase sanguine et l'arrivée de nombreux phagocytes (polynucléaires et monocytes) dans les vaisseaux hépatiques.

Trois à vingt-quatre heures après l'injection, apparition de plages nécrotiques périlobulaires résultant de l'altération (perte de la fonction athrocytaire et pycnose du noyau) puis de la disparition des cellules endothéliales et de la « vacuolisation aqueuse » suivie de lyse des cellules hépatiques. En bordure de la zone nécrotique, il y a toujours persistance d'une marge plus ou moins épaisse de cellules hépatiques fortement vacuolisées, dans laquelle les endothéliums des capillaires ont disparu ou sont fortement altérés.

Au-delà de 24 heures après l'injection, les lésions n'augmentent plus de volume et les phénomènes de régénération entrent en jeu, multiplication par mitoses des cellules hépatiques saines en bordure des lésions, régénération des espaces de Kiernan et du réseau capillaire à partir des bourgeons conjonctivo-vasculaires des espaces portes. 48-72 heures après l'injection, les lésions sont complètement réparées.

L'importance des lésions est très variable d'un animal à l'autre (résistance individuelle, modifications chimiques de l'alloxane) et dans le même foie, d'une région à l'autre (variation de l'état fonctionnel régional).

La gravité des lésions est indépendante de l'état de gravidité. Il n'y a pas de périodes critiques dans la gestation pendant lesquelles l'alloxane agirait plus ou moins fortement sur le foie.

Chez la femelle gravide, la migration précoce de phagocytes dans le foie est nettement moins importante que chez le mâle; ce fait semble être en rapport étroit avec la gestation puisque, au même moment, on assiste à une mobilisation massive de polynucléaires et de monocytes dans le placenta, qui draine ainsi la plus grande partie des phagocytes disponibles. La proportion plus faible de ces cellules au niveau du foie chez la femelle gravide expliquerait une certaine lenteur dans la liquidation des cellules hépatiques vacuolisées et des débris cellulaires et un léger retard dans l'apparition des processus de régénération comparativement à ce qui se passe dans le foie du mâle.

2. ACTION DE L'ALLOXANE SUR LE FOIE DU FŒTUS.

L'âge des 70 fœtus dont nous décrivons plus loin les lésions hépatiques s'échelonne du 29/30^e jour (20 mm) au 69/70^e jour (fœtus à terme).

Avant de décrire les lésions hépatiques, il nous faut rappeler les principales étapes du développement de cet organe durant les deux derniers tiers de la gestation.

a) *Histogénèse hépatique.*

Chez le fœtus témoin normal de 20 mm, (29^e jour), le foie est volumineux; dans les lobes hépatiques le réseau vasculaire veineux est formé de gros vaisseaux, peu nombreux et dont la paroi est

réduite à l'endothélium. Il est pratiquement impossible de faire la distinction entre les ramifications de la veine porte et celles de la veine sus-hépatique. Les capillaires proprement dits sont rares; entre les cellules hépatiques, on remarque fréquemment des files de noyaux ovoïdes allongés, qui sont probablement les pointes des bourgeons des capillaires en voie de développement.

Les cellules hépatiques, tassées en plaques compactes irrégulières, ont un noyau assez volumineux, peu chromatique, fréquemment en mitose; leur cytoplasme peu abondant, renferme parfois une gouttelette de graisse, jamais de glycogène.

L'hématopoïèse a fait son apparition peu auparavant; des foyers d'une dizaine de cellules au maximum (sur coupes) sont localisés en bordure des grosses veines.

Chez le fœtus de 27-30 mm (34/36^e jour), le foie s'est beaucoup développé et la structure histologique a fait de grands progrès. Les plus grosses ramifications de la veine porte sont reconnaissables à la lame de tissu conjonctif jeune qui est venue doubler l'endothélium. Dans le voisinage du hile, on peut même parler de véritables espaces de Kiernan, les canalicules biliaires ayant apparu dans le conjonctif périportal. Les capillaires sont nombreux, de formes extrêmement irrégulières. Ils ont dissocié les grosses masses de cellules hépatiques qui maintenant tendent à former des travées encore irrégulières. La structure du lobule hépatique commence à se dessiner. Les cellules hépatiques elles-mêmes n'ont pas subi de grands changements. La graisse augmente petit à petit dans la région périportale surtout, le glycogène est toujours absent. L'hématopoïèse est devenue exubérante, tout le réseau capillaire est bordé de foyers d'hématopoïèse volumineux, qui masquent, par places le système des travées de Remack. Les premiers mégacaryocytes ont apparu.

Pendant la seconde moitié de la gestation, le foie continue à se développer de la même manière. Le réseau vasculaire se complique et la structure lobulée se précise. Les cellules hépatiques accumulent de la graisse et dès le 45^e jour, (69 mm), les cellules de la zone périlobulaire sont bourrées de grosses gouttes de graisse. Jusqu'à la mise bas, le foie continue à accumuler des réserves énormes de lipides. Chez le fœtus à terme, le foie est typiquement un « foie gras »; toutes les cellules hépatiques, jusqu'au centre du

lobule parfois, sont hypertrophiées par de grosses gouttelettes de graisse qui refoulent le noyau à la périphérie.

Le glycogène apparaît discrètement dans les cellules hépatiques à partir du 45^e jour (69 mm). A partir du 56^e jour (87 mm), la teneur en glycogène du foie augmente rapidement et chez le fœtus à terme, à côté de la forte teneur en lipides, le foie contient une importante réserve glycogénique. (v. S. DUCOMMUN 1950).

L'hématopoïèse est toujours très active jusqu'au 50-51^e jour (75/80 mm); à partir de ce moment, elle ralentit et chez le fœtus à terme, il n'y a plus que quelques très petits foyers d'hématopoïèse.

*b) Altérations hépatiques résultant de l'intoxication
alloxanique.*

Pour agir sur le foie du fœtus, l'alloxane (ou ses dérivés) a dû passer du sang maternel dans le sang fœtal, en franchissant la barrière placentaire représentée par le plasmode lobulaire et péri-lobulaire du placenta, (A.-M. Du Bois 1957*b*). Bien que la dose d'alloxane injectée à la mère ait toujours été la même (200 mg/kg intracardiaque), il est évident que la quantité d'alloxane (ou ses dérivés) circulant dans le sang des fœtus sera extrêmement variable et vraisemblablement proportionnelle à la résistance de la barrière placentaire.

L'examen des foies de 70 fœtus (provenant des 27 portées) a en effet montré que les altérations sont toujours du même type, quelque soit l'âge des fœtus, mais l'importance des lésions est extrêmement variable.

Sept fœtus (provenant des 4 femelles 770, 915, 483, 463) ne présentaient aucune altération hépatique, bien que les foies maternels aient tous été nettement « alloxaniques »; comme les 7 placentas correspondants étaient normaux ou très peu altérés, la barrière placentaire semble dans ces cas avoir résisté à l'intoxication qui a pourtant agit 24 ou 48 heures (exception faite de la femelle 463 morte 40 minutes après l'injection).

Chez les 63 fœtus restants, nous avons toujours constaté des altérations du même type mais très variables quant à leur étendue. Deux faits d'ordre général doivent être signalés dès le début:

1° Les fœtus d'une même portée, présentent des altérations hépatiques d'importance très comparable. Nous n'avons jamais

rencontré, par exemple chez un fœtus un foie normal, tandis que ceux de ses frères et sœurs étaient altérés. Nous avons déjà constaté un fait analogue à propos du placenta; les altérations placentaires étant approximativement de même degré dans tous les placentas d'une même portée. Si l'altération de la barrière placentaire est la même dans tous les œufs d'une portée, il est évident que l'intoxication des fœtus doit elle aussi être approximativement du même degré.

- 2° L'importance des altérations hépatiques n'est pas fonction de l'âge des fœtus. Entre le 30^e jour de la gestation et la mise bas, les altérations hépatiques sont fortes ou faibles, suivant les portées, mais il n'existe pas de phase du développement où la résistance à l'intoxication paraisse maximum ou minimum. Pour faciliter la description des lésions hépatiques constatées, nous les classerons, selon leur importance, en 2 groupes.

1) *Lésions hépatiques faibles, n'intéressant que les endothéliums.*

Les 25 fœtus (appartenant à 8 portées) qui présentent des lésions de ce degré sont récapitulés dans la table 2¹.

Chez ces individus, les foies paraissent à première vue normaux avec toutefois une assez forte stase sanguine. En étudiant atten-

TABLE 2

Altérations hépatiques faibles: pycnose et disparition des endothéliums limitées à certaines zones périlobulaires.

N° des femelles	Nombre des fœtus	Taille en mm des fœtus	Age en jours des fœtus	Durée d'action de l'alloxane
482	2	20	29/30	24 h.
458	5	27/31	34	24
488	4	38/42	37	10
733	3	56/57	42/43	48
493	3	62/68	48/49	48
717	2	80	53/59	14
473	3	110/120	66	24
453	3	120	67/68	20

¹ Il est évident que cette classification est assez arbitraire, puisque nous n'avons étudié que quelques coupes pour chaque foie; il se peut que dans une autre région du même foie, les lésions soient plus prononcées.

tivement le réseau vasculaire, on constate cependant que les noyaux endothéliaux sont par place en pycnose et que parfois même sur une étendue plus ou moins considérable, l'endothélium manque totalement. Cette rupture des capillaires entraîne une hémorragie localisée, mais son étendue est difficile à apprécier, le sang extravasé étant mélangé avec les éléments des foyers d'hématopoïèse environnants. Les cellules de l'hématopoïèse ne semblent pas altérées. Les cellules hépatiques sont normales. Chez les fœtus ayant dépassé 56 mm, elles paraissent sur coupe fortement vacuolisées; mais cette apparence trahit simplement la surcharge lipidique normale chez le fœtus, surcharge lipidique qui se colore intensément par les colorants spécifiques des graisses.

2) *Lésions hépatiques prononcées intéressant les endothéliums, les cellules hépatiques et les cellules de l'hématopoïèse.*

Les foies de 42 fœtus appartenant à 15 portées, présentaient des lésions intéressant à la fois le réseau vasculaire et le parenchyme hépatique, souvent aussi l'hématopoïèse.

TABLE 3

Altérations hépatiques prononcées: plages nécrotiques plus ou moins importantes par disparition des endothéliums et lyse des cellules hépatiques; altérations des éléments de l'hématopoïèse.

N° des femelles	Nombre de fœtus	Taille en mm des fœtus	Age en jours des fœtus	Durée d'action de l'alloxane
499	4	28	34	54 h.
744	2	30	35/36	14
731	2	48/50	42/43	3
923	3	53	41/43	72
456	3	58/60	43	48
911	3	65	47/48	10
427	3	68/75	49	24
490	3	70/74	49	30
919	3	74	49/50	34
465	4	80/81	50/51	24
717	2	80	53/54	14
736	2	80	53/54	6
440	3	85/90	55/56	22
476	4	90/96	61	22
494	1	105	64/65	48

Dans les 42 foies, l'amplitude des lésions est extrêmement variable, mais à la différence du groupe précédent, on constate toujours, à côté de la stase sanguine et de la destruction pycnotique des capillaires (fig. 4 *a* et *b*), une altération des cellules hépa-

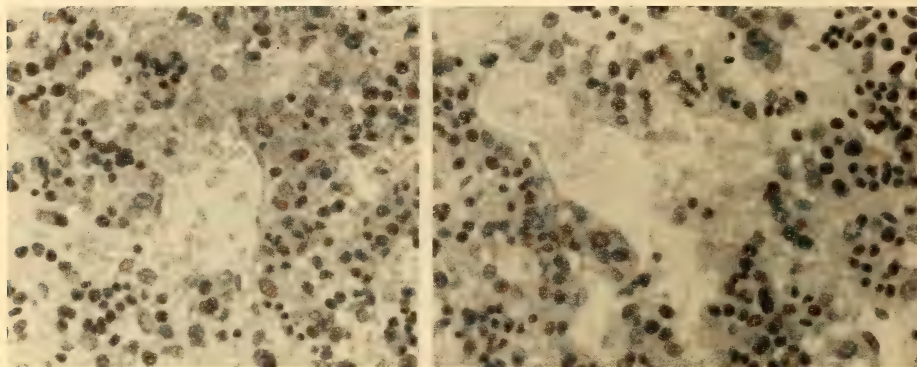


FIG. 4.

Foie fœtal, 49^e jour de la gestation, 24 h. après 1 injection intracardique de 220 mgr/kg d'alloxane à la femelle gravide.

a) et *b*) disparition partielle de l'endothélium des capillaires avec petites hémorragies très localisées (fœtus 427 A. Gross. \times 320).

tiques. Dans les cas les moins graves, les cellules hépatiques bordant les capillaires plus ou moins détruits prennent une apparence déliquescente, leur cytoplasme se colore mal par l'éosine et le noyau tend à devenir anguleux. Ces altérations sont surtout visibles chez les petits fœtus (de taille inférieure à 55 mm) où la surcharge graisseuse est encore peu importante. La cellule hépatique fœtale ne présente jamais la « vacuolisation aqueuse » si caractéristique de la cellule hépatique adulte.

Dans un stade plus avancé, les cellules hépatiques sont lysées, provoquant l'apparition de cavités nécrotiques, bourrées de sang. La figure 5 (465 A, 73 mm, 24 heures d'action d'alloxane) donne une image de ces cavités nécrotiques; c'est dans cette portée que les cavités étaient les plus volumineuses et l'on peut constater que la paroi de la veine n'est pas attaquée. Les cavités sont en général moins importantes (fig. 6, 427 A, 68 mm, 24 heures) parfois même très réduites.

Il est évident que l'hématopoïèse hépatique souffre aussi de cette intoxication; nous n'avons pas étudié en détail toutes les lignées hématopoïétiques, mais nous avons toujours constaté que dans le voisinage des lésions, les mégacaryoblastes sont altérés;

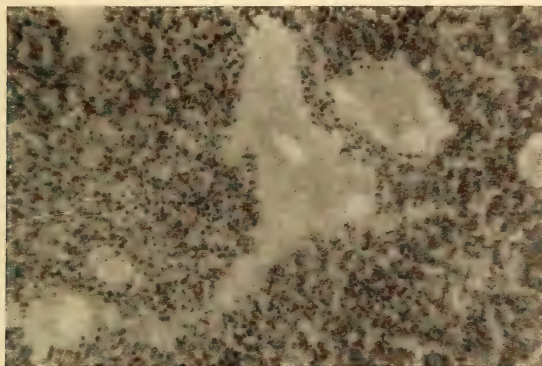


FIG. 5.

Foie foetal, 50-51^e jour de la gestation, 24 h. après 1 injection intracardiaque de 200 mgr/kg d'alloxane à la femelle gravide.

Cavité nécrotique volumineuse au voisinage d'une veine porte; l'espace de Kiernan est encore mal dessiné, on reconnaît cependant l'ébauche du canalicule biliaire en bas à droite de la veine porte (foetus 465 A. Gross. $\times 70$).

leur cytoplasme prend avec l'éosine une coloration rouge violacé et leurs noyaux sont nettement pycnotiques. Nous ne savons pas si la granulocytopoïèse est aussi altérée, mais un fait essentiel ressort de toutes nos observations. Alors que chez le mâle comme chez la femelle gravide, l'intoxication alloxanique déclenche une mobilisation précoce et massive de phagocytes (granulocytes neutrophiles et monocytes) dans le foie, chez le fœtus même à terme, nous n'avons jamais constaté la présence de ces éléments dans les lésions hépatiques. On peut émettre nous semble-t-il deux hypothèses pour expliquer ce fait, hypothèses que nous n'avons pas cherché à vérifier pour le moment: soit que l'intoxication détruise les deux lignées hématopoïétiques à la fois dans la rate, la moelle osseuse et le foie, soit que les propriétés phagocytaires de ces cellules n'apparaissent qu'après la naissance.

Nous n'avons jamais constaté de *processus de régénération* dans le foie foetal comparables à ceux observés dans le foie adulte. Chez

le fœtus, l'histogénèse hépatique se manifeste par de nombreuses mitoses des cellules hépatiques et des bourgeonnements du réseau capillaire. Dans les foies fœtaux altérés, nous avons naturellement trouvé de nombreuses cellules hépatiques en mitoses, mais elles



FIG. 6.

Foie fœtal, 49^e jour de la gestation, 24 h. après 1 injection intracardiaque de 200 mgr/kg d'alloxane à la femelle gravide.
Cavité nécrotique peu volumineuse (fœtus 427 A. Gross. \times 70).

ne sont pas localisées à la périphérie de la lésion comme chez l'adulte. Nous n'avons pas non plus trouvé les bourgeons de régénération qui fusent à partir des espaces de Kiernan, pour rétablir le réseau capillaire disparu.

L'intoxication alloxanique ne paraît pas avoir d'effet sur la teneur en graisse du foie du fœtus, dans nos conditions expérimentales. Dans les régions altérées, à cellules hépatiques plus ou moins lysées, elle fait naturellement défaut, mais dans le reste du lobule, la quantité de graisse est tout à fait comparable à celle qu'on observe chez un fœtus témoin du même âge. Il se peut que si l'expérience avait duré plus longtemps, la structure déficitaire du placenta ait, par la suite, influencé l'accumulation de graisse dans le foie.

En ce qui concerne la teneur en glycogène, nous avons signalé plus haut que chez le fœtus normal, le glycogène hépatique n'apparaît qu'à partir du 45^e jour de la gestation (fœtus de 60/64 mm) et il faut attendre le 55^e jour (fœtus de 80 mm) pour que le foie en contienne une certaine quantité.

Dans nos expériences, les foies de 19 fœtus ayant atteint cette taille, ne présentaient pas de traces de glycogène. Chez la femelle gravide, nous avons constaté la vidange, provoquée par les 24 heures de jeûne précédant l'injection d'alloxane, de la réserve glycogénique du foie et sa non réapparition à la suite de l'injection. La disparition du glycogène dans le foie fœtal est-elle en relation directe avec la perturbation du métabolisme des sucres de la mère ou simplement avec l'altération, par l'intoxication alloxanique du subplacenta? la question est difficile à résoudre. Comme à partir du 48^e jour (fœtus de 62/65 mm), le subplacenta entre en régression et que sa teneur en glycogène s'abaisse rapidement, il semble plutôt probable que ce soit la première des hypothèses qu'il faille considérer.

Les 3 fœtus 483 A et 463 A et B seuls ont une teneur en glycogène à peu près normale, et ne présentent pas de lésions hépatiques bien que le placenta du fœtus 483 soit passablement altéré.

c) Discussion des résultats et conclusions.

Si l'on essaie de rechercher les causes des lésions hépatiques constatées chez le fœtus de Cobaye après une injection intracardiaque d'alloxane (200 mg/kg) à la femelle gravide, on se heurte immédiatement à un problème très complexe et pour le moment impossible à résoudre.

On pourrait supposer simplement que l'alloxane (ou ses dérivés) passe du sang maternel à travers le plasmode du labyrinthe placentaire dans la circulation fœtale et qu'elle agit ainsi directement sur le foie du fœtus. Mais cette manière de voir ne tient pas compte de l'altération du placenta provoquée par l'intoxication alloxanique.

Dans un placenta à plasmode altéré, détruit par place, les échanges entre le sang maternel et fœtal, dans un sens ou dans l'autre, sont fatalement modifiés, et l'on pourrait tout aussi bien supposer que l'altération du foie fœtal résulte d'une intoxication générale du fœtus due au mauvais fonctionnement du placenta et non à l'action directe de l'alloxane.

Peut-être enfin les lésions hépatiques sont-elles dues à la combinaison de ces deux actions toxiques. La morphologie des lésions ne permet pas à elle seule de trancher la question.

Le foie altéré du fœtus n'est pas typiquement un « foie alloxanique » comme nous l'avons décrit chez le mâle et la femelle gravide. La « vacuolisation aqueuse » des cellules hépatiques si caractéristique du « foie alloxanique » adulte fait complètement défaut ainsi que la mobilisation massive des éléments phagocytaires. Mais ces deux caractères négatifs ne sont pas nécessairement contre un effet d'intoxication directe par l'alloxane; ils sont peut-être inhérents à l'état fœtal du foie.

Il n'existe pas, à notre connaissance, de travaux expérimentaux relatifs à l'action directe de toxiques sur le foie fœtal des mammifères de laboratoire, ou sur la répercussion d'altérations placentaires sur le métabolisme général du fœtus. Nous n'avons donc aucun point de comparaison avec d'autres types éventuels de lésions hépatiques fœtales.

Quoiqu'il en soit, si le problème de la cause exacte des altérations hépatiques fœtales reste pour le moment impossible à résoudre, l'existence de ces lésions est un fait acquis. Elles apparaissent rapidement; déjà 3-6 heures (731 A et B, 736 A et B) après l'injection d'alloxane à la mère, on constate dans le foie des fœtus une stase sanguine et des altérations endothéliales (pynose puis disparition des cellules endothéliales). L'étendue des lésions relativement à la grandeur du foie est toujours peu importante. Dans les foies des fœtus 465 A, B, C, D, qui présentent les cavités nécrotiques les plus vastes, elles n'intéressent que la région périportale alors que dans le « foie alloxanique » typique de l'adulte, les processus nécrotiques détruisent souvent un lobule tout entier, espaces de Kiernan compris.

L'hématopoïèse subit aussi les effets de l'intoxication; c'est par l'altération des mégacaryoblastes qu'on la constate le plus aisément; les altérations possibles des autres lignées des cellules sanguines n'ont pas été étudiées.

RÉSUMÉ

Chez la femelle de Cobaye gravide, comme chez le mâle, l'alloxane provoque très rapidement (20-40 minutes après l'injection) une forte stase sanguine intra-hépatique. La « vacuolisation aqueuse » des cellules hépatiques, suivie de lyse et de la disparition progressive des endothéliums des capillaires périlobulaires, pro-

voque en quelques heures l'apparition de cavités nécrotiques plus ou moins vastes. Vingt-quatre heures après l'injection, des processus actifs de régénération se manifestent, mitoses des cellules hépatiques saines en bordure des lésions, prolifération de bourgeons de régénération à partir des espaces de Kiernan non altérés. et 48-72 heures après l'injection, les lésions sont complètement réparées.

Chez le fœtus, les lésions hépatiques sont discrètes, stase sanguine, petites hémorragies intralobulaires par disparition des endothéliums, cavités nécrotiques peu volumineuses renfermant des cellules hépatiques en voie de lyse et des éléments de l'hématopoïèse apparemment non altérés. L'importance des lésions est assez variable et ne dépend pas de l'âge du fœtus. Les fœtus d'une même portée présentent des lésions hépatiques de degré comparable. Ces lésions du foie fœtal sont provoquées soit par l'action directe, locale, de l'alloxane ayant passé la barrière placentaire, soit par un état d'intoxication générale du fœtus résultant du mauvais fonctionnement du placenta altéré par l'intoxication alloxanique.

BIBLIOGRAPHIE

- ATERMAN, K. 1952a. *Some local factors in the restoration of rat's liver after partial hepatectomy. 1. Glycogen, the Golgi apparatus, sinusoidal cells, the basement membrane of the sinusoids.* Arch. of Path. 53: 197.
- 1952b. *Some local factors in the restoration in the rat's liver after partial hepatectomy. 2. "Watery vacuolisation" its relations to the vacuolisation of anoxia.* Arch. of Path. 53: 208.
- 1955. *The nature of "watery vacuolation" of the liver cell.* J. exp. Physiol. 40: 272.
- CAZAL, P. 1955. *Histopathologie du foie.* Masson et C^{ie}, Paris.
- DESCLAUX, P., A. SOULAIRAC, J. TESSEYRE et J. BROCHERIOU. 1949. *Modification du parenchyme hépatique, du glycogène et du tissu réticuloendothélial au cours de l'évolution du diabète alloxanique du rat.* C. R. Soc., Biol. 143: 368.
- DU BOIS, A. M. 1954a. *Action de l'alloxane sur les cellules de von Kupffer du foie de Cobaye.* Rev. suisse Zool. 61: 490.
- 1954b. *Action de l'intoxication alloxanique sur le foie de Cobaye.* Z. Zellforsch. 40: 585.
- 1957a. *Altérations provoquées chez le fœtus de Cobaye par l'injection d'alloxane à la femelle gravide.* Rev. suisse Zool. 64: 267.

- 1957b. *L'intoxication alloxanique chez la femelle gravide de Cobaye. 1. Effets de l'alloxane sur le placenta.* Z. Zellforsch. 47: 214.
- 1957c. *L'intoxication alloxanique chez la femelle gravide de Cobaye. 2. Effets de l'alloxane sur les îlots endocriniens du pancréas de la mère et du fœtus.* Z. Zellforsch. 47: 226.
- et J. SCHERER. 1953. *Effets d'injection d'alloxane sur le foie du Cobaye.* Acta Anat., 19: 392.
- DUCOMMUN, S. 1951. *L'évolution de la graisse et du glycogène hépatiques chez la femelle gravide et l'embryon de Cobaye.* Acta Anat. 12: 286.
- FLORENTIN, P., R. GRANDPIERRE, P. GROGNOT et J. ROGER. 1944. *Modifications histologiques du foie provoquées par l'anoxémie.* C. R. Soc. Biol. 138: 280.
- GOLDNER, M. G. et G. GOMORI. 1943. *Alloxan diabetes in the dog.* Endocrinology 33: 297.
- GOMORI, G. and M. G. GOLDNER. 1947. *Uneven distribution of glycogen in the liver.* Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 66: 163.
- HERBERT, P., J. S. WATSON and E. PERKINS. 1946. *Hepatic and renal necrosis in alloxan diabetes in rabbit.* Arch. of Path. 41: 506.
- HOET, J. P. et P. DE MOOR. 1951. *Le diabète alloxanique.* Exposés ann. biochim. méd., 12. sér.: 55.
- HOUSSAY, B. A. 1946. Amer. Med. Assoc. 132, 236.
- 1947. Canad. Med. Assoc. J. 56, 519 (cités par J. P. HOET et P. DE MOOR: 1951. *Le diabète alloxanique*).
- MOYSON, F. 1943. *Recherches sur les modifications de la teneur en acides ribonucléiques dans les cellules hépatiques et kupfferiennes du rat traumatisé.* Arch. de Biol. 64: 247.
- MOOR, P. de. 1953. *Le diabète alloxanique. Contribution à la pathogénèse du syndrome.* Masson et C^{ie}, Paris.
- PFUHL, W. 1932. *Die Leber.* In Handbuch d. mikroskop. Anat. d. Menschen Springer Berlin, Bd V/2: 235.
- TROWELL, O. A. 1946. *Experimental production of watery vacuolisation of the liver.* J. of Physiol. 105: 268.
- WEST, E. S. and D. M. HIGHET. 1948. *Resistance of guinea pig to action of alloxan.* Proc. soc. Biol. a. med. 67: 60.
-

Der Elektrolytstoffwechsel des Diaphragma nach Adrenalektomie und seine Beeinflussung durch Corticosteroide

von

Edw. FLÜCKIGER

Basel.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Basel,
Direktor: Prof. Dr. F. Verzár)¹

Fräulein Prof. K. Ponse zum 60. Geburtstag
am 5. September 1957 gewidmet zum Dank für
ihre Einführung in den Genuss der Musik und
in die Histologie endokriner Organe.

Muskel- und Nervenzelle enthalten im Ruhezustand viel Kalium und wenig Natrium, während in der Extrazellulärflüssigkeit und im Blutplasma umgekehrte Konzentrationsverhältnisse herrschen. Die so gebildeten Konzentrationsgradienten bilden die Grundlage der Erregbarkeit dieser Zellen. Die intracelluläre Stapelung von Kalium und Ausschliessung von Natrium wird aber auch bei anderen Zelltypen gefunden (Erythrocyten, Leukocyten, Hefezellen, Colibakterien etc.) und scheint demnach eine primitive Zellfunktion zu sein. Wesentlich ist, dass der Aufbau bzw. die Erhaltung der Konzentrationsunterschiede zwischen intra- und extracellulärem Milieu ein aktiver Zellprozess ist, der eng mit dem Kohlehydratstoffwechsel verbunden ist, wie VERZÁR als Erster 1940/41 an Hefezellen und Leukocyten des Pferdes nachwies und später auch an Muskelzellen demonstrierte (7). Viele Untersuchungen sind

¹ zur Zeit: Pharmakologisches Laboratorium, SANDOZ A.G. Basel.

seither durchgeführt worden, um diese Zusammenhänge zu analysieren. Eine Arbeitsrichtung benützt als Methode die Nebennierenexstirpation um eine Störung des Stoffwechselgeschehens zu erzeugen, die sowohl den Kohlehydratstoffwechsel als auch den Elektrolythaushalt betrifft.

Exstirpation der Nebennieren bewirkt beim Säuger eine „basale Zellstoffwechselstörung“ (9, 10), welche vor allem die energieliefernden Zellprozesse (Phosphorylierungsvorgänge) und damit verbunden den Elektrolytstoffwechsel und Wasserhaushalt trifft. Adrenalektomierte Tiere zeigen eine zunehmende Verminderung an Plasma-Na, welches mit dem Harn ausgeschwemmt wird, sowie eine Erhöhung des Plasma-K. Parallel zu diesen Elektrolytverschiebungen, welche eine Verminderung der Konzentrationsunterschiede zwischen extra- und intracellulärem Raum bewirken, entwickelt sich eine Muskelschwäche (Adynamie), die, wie VÖGTLI (11) zeigen konnte, z.T. durch das veränderte extracelluläre Elektrolytmilieu erklärt werden kann. Bei in vitro Versuchen fanden aber MENTHA, VÖGTLI und VERZÁR (8), dass die Muskeln von nebennierenlosen, adynamischen Tieren auch in einem Elektrolytmilieu normaler Zusammensetzung weniger Arbeit zu leisten vermögen und bei Zusatz von Glukose weniger Glykogen bilden. Das heisst, die Adrenalektomie wirkt auf die Muskelzellen nicht nur im Sinne einer Depolarisation, hervorgebracht durch die Elektrolytverschiebungen, was zu einer verminderten Arbeitsleistung führen muss, sondern auch auf die Fermentsysteme des Energiehaushaltes.

Es muss deshalb von grossem Interesse sein, in vitro Nebennierenrindenhormone zu adynamen Muskelpräparaten zuzusetzen, um ihren Einfluss auf Elektrolyt- und Kohlehydratstoffwechsel zu untersuchen, und dann die Resultate mit jenen zu vergleichen, die unter gleichen Verhältnissen an Muskeln normaler Tiere gewonnen wurden.

Im Folgenden soll berichtet werden über den Elektrolytstoffwechsel des Zwerchfells adrenalektomierter Ratten und seine Beeinflussung durch Corticoide. Die entsprechenden Versuche an Diaphragmen normaler Tiere wurden an anderer Stelle veröffentlicht (1).

Methoden. Als Versuchstiere wurden mit Ausnahme der in Tabelle V dargestellten Versuche ca. 100 g schwere, 2 Monate alte männliche Ratten der Institutszucht verwendet. Die Adrenalekto-

mie wurde unter Aethernarkose vom Rücken her zugleich beidseitig vorgenommen. Die Tiere entwickelten dann innert 6 bis 10 Tagen eine Nebennierenrindeninsuffizienz, die zum Tode führt. Die Ratten wurden dann zum Versuch verwendet, wenn sich die Muskeladynamie so weit entwickelt hatte, dass sie sich an senkrecht aufgestelltem Gitter nicht mehr halten konnten. Im Gegensatz zu den Versuchen an normalen Tieren (1) konnten die nebennierenlosen Ratten wegen ihrer Schwäche vor dem Versuch nicht während 18-24 Stunden gehungert werden; das Futter wurde den adynamen Tieren nur etwa 4 Stunden vor dem Versuch entzogen.

Das Zwerchfell wurde den durch Nackenschlag getöteten Tieren möglichst schonend und schnell entnommen und in 3 Teile zerlegt. Der vertebrale Mittelteil eignet sich wegen seiner Dicke nicht zu Austauschversuchen; er wurde deshalb nur dazu verwendet, den Anfangsgehalt an Na und K zu bestimmen. Wie an anderer Stelle nachgewiesen wurde (1), stimmen die Na- und K-Mengen in den Seitenteilen mit denen des Mittelteiles überein, so dass dieses Vorgehen zulässig ist. Die zwei Seitenteile ohne das Centrum tendineum kamen bei 37° C in kleine Gefässe mit Krebs-Ringer-Lösung (6), welche, wie an anderem Ort dargelegt wurde (1), für unsere Zwecke besser ist als die früher von uns verwendete Ringerlösung nach HASTINGS (5).

Nach Abschluss des 60 Minuten dauernden Versuches wurden die Muskelstücke auf Filterpapier ausgebreitet und leicht abgetupft, hierauf von anhaftendem Gewebe gereinigt und gewogen. Dann wurden die Muskeln in Pyrexschälchen bei 500° C verascht und hierauf ihr Elektrolytgehalt mit dem Flammenphotometer bestimmt.

Zur Untersuchung des Austausches von Na und K wurde in der Ringerlösung ein Teil des Na oder K durch ein radioaktives Isotop, Na²⁴ oder K⁴² (von AERE Harwell bezogen) ersetzt. Die Verdünnung der Isotopen wurde so gewählt, dass 10³ Impulse pro Minute (ipm) Na²⁴ 6.9×10^{-3} meq Na, und dass 10³ ipm K⁴² 5.95×10^{-3} meq K entsprachen. Die Radioaktivität wurde in den veraschten Muskelstücken mit einem Geigerrohr TGC-2 und einem „Tracerlab“-Counter bestimmt.

Wurde der Ringerlösung Glukose zugesetzt, dann geschah dies in einer Konzentration von 200 mg% und stets zusammen mit 10 E/100 cm³ Insulin (Lilly). Die Corticosteroide wurden in Aethyl-

alkohol gelöst zur Ringerlösung gegeben, so dass die Versuchslösung 10 mg% Corticoide und 0.5% Alkohol enthielt. Dieser Alkoholgehalt hat keinen Einfluss auf unsere Ergebnisse (1).

Ergebnisse

1) *Natrium- und Kalium-Gehalt.*

Ein Vergleich des Anfangsgehaltes an Natrium und Kalium zwischen den Diaphragmen normaler und adrenaletomierter Ratten ergab bei den nebennierenlosen Tieren höhere K- und niedrigere Na-Werte als bei gleichartigen Kontrollen. In Tabelle I sind die Resultate von parallelen Analysen, welche an gleichaltrigen operierten und normalen Tieren durchgeführt worden sind, einander gegenübergestellt. Wie die P-Werte zeigen, sind die dargestellten Differenzen statistisch hoch signifikant.

TABELLE I

Kalium- und Natriumgehalt im Diaphragma normaler und adrenaletomierter Ratten.

	Kalium meq/100 g	Natrium meq/100 g
15 normale	8,95 \pm 0,105 *)	3,56 \pm 0,115
32 adrenaletomierte	9,53 \pm 0,083	3,15 \pm 0,077
Differenz	+ 0,58	— 0,41
P	< 0,01	< 0,01

* Mittelwert \pm ϵ .

2) *Einfluss des Glukosestoffwechsels auf den Natrium- und Kaliumstoffwechsel.*

Zwerchfelle adrenaletomierter Ratten bauen in Gegenwart von Glukose und Insulin Glykogen auf (8). Wie aus den in Tabelle II zusammengestellten Analysen hervorgeht, sind diese adynamen Muskeln ebenfalls in der Lage, in Gegenwart von Glukose ihren

TABELLE II

*Wirkung der Glukose auf den Elektrolytstoffwechsel des Zwerchfells
der adrenalectomierten Ratte (meq/100 g)*

	1 Initialwert	2 Ohne Glukose	3 mit Glukose	4 Differenz 2-1	5 Differenz 3-1	6 Differenz 3-2
Gesamt K	9,53 ± 0,083 (32)	9,03 ± 0,115 (6)	10,32 ± 0,110 (34)	- 0,50 P < 0,01	+ 0,79 P < 0,01	+ 1,29 P < 0,01
Aufnahme K ⁴²		4,68 ± 0,300 (3)	4,59 ± 0,162 (16)			- 0,09 P < 0,8
Gesamt Na	3,15 ± 0,077 (32)	3,80 ± 0,225 (6)	3,15 ± 0,087 (32)	+ 0,65 P < 0,01	± 0,00 P = 1	- 0,65 P < 0,01
Aufnahme Na ²⁴		3,13 ± 0,223 (4)	2,86 ± 0,090 (18)			- 0,27 P < 0,3

K-Gehalt weiter zu steigern, währenddem er in Ringerlösung ohne Glukosezusatz abnimmt. Nach einer Stunde in Glukose-Ringer weisen die Muskeln 1.29 meq K mehr auf als in Ringerlösung ohne Glukose. Der K-Austausch, gemessen an der Aufnahme an K^{42} zeigt unter beiden Versuchsbedingungen denselben Wert. Während der Na-Gehalt in Ringerlösung ohne Glukose um 0.65 meq zunimmt, verändert er sich in Gegenwart von Glukose nicht. Auch der Na-Austausch zeigt unter den zwei Versuchsbedingungen keine signifikante Differenz.

3) *Wirkung von Desoxycorticosteron auf den Elektrolytstoffwechsel.*

Es ist in früheren Versuchen nachgewiesen worden (8), dass Desoxycorticosteron (DOC) beim adrenaletomierten Tier ebenso wie beim normalen Tier die Glykogenbildung des Diaphragma in glukosehaltiger Ringerlösung hemmt. Wie aus den in Tabelle III (linke Hälfte) zusammengestellten Analysen hervorgeht, verringert sich der in Gegenwart von Glukose stark erhöhte K-Gehalt bei Zusatz von DOC um 0.64 meq. Ebenso verringert sich der mit K^{42} gemessene K-Austausch. Umgekehrt nimmt der Na-Gehalt bei Zusatz von DOC zur Glukose-Ringerlösung deutlich zu und der Na-Austausch ist in signifikanter Weise erhöht.

Die Versuchsergebnisse ergeben deutlich, dass entsprechend der vollkommenen Hemmung des Glykogenaufbaus durch DOC der Elektrolythaushalt sich so verhält, als ob keine Glukose zur Verfügung stände, d.h. der Muskel verliert Kalium und nimmt Natrium auf.

4) *Wirkung von Hydrocortison auf den Elektrolytstoffwechsel.*

In Tabelle III (rechte Seite) sind die Resultate der Hydrocortisonversuche, die parallel zu denen mit DOC durchgeführt wurden, dargestellt. Es zeigte sich, dass bei Zusatz von Hydrocortison zur Glukose-Ringerlösung der K-Gehalt der Muskeln in signifikanter Weise um 0.69 meq abnahm. Auch der K-Austausch, gemessen an der K^{42} -Aufnahme, verminderte sich deutlich. Umgekehrt nahm der Na-Gehalt in Gegenwart von Hydrocortison zu, währenddem sich der Na-Austausch nicht veränderte. Auch eine weitere Versuchsserie, bei der nur flammenphotometrische Analysen

TABELLE III
*Wirkung von Corticoiden auf den Elektrolytstoffwechsel des Zwerchfells
 der adrenalectomierten Ratte (meq/100 g)*

	Desoxycorticosteron			Hydrocortison		
	Glukose allein	Glukose + DOC	Differenz	Glukose allein	Glukose + comp. F	Differenz
Gesamt K	10,32 ± 0,110 (34)	9,68 ± 0,426 (4)	— 0,64 P < 0,2	10,32 ± 0,110 (34)	9,63 ± 0,152 (24)	— 0,69 P < 0,01
Aufnahme K ⁴² . .	4,59 ± 0,162 (16)	3,92 ± 0,070 (2)	— 0,67 P < 0,01	4,59 ± 0,162 (16)	4,24 ± 0,108 (12)	— 0,35 P < 0,1
Gesamt Na	3,15 ± 0,087 (32)	3,82 ± 0,613 (4)	+ 0,33 P < 0,3	3,15 ± 0,087 (32)	3,38 ± 0,062 (24)	+ 0,23 P < 0,05
Aufnahme Na ²⁴ . .	2,86 ± 0,090 (18)	3,30 ± 0,00 (6)	+ 0,44 P < 0,01	2,86 ± 0,090 (18)	2,92 ± 0,89 (12)	+ 0,06 P < 0,7

gemacht wurden, deren Ergebnisse in Tabelle IV zusammengestellt sind, zeigt dasselbe Bild.

TABELLE IV

	Initial (1)	Glukose (2)	Glukose + comp. F. (3)	Differenzen und P		
				1-2	1-3	2-3
K	9,35 ± 0,094 (6)	10,55 ± 0,185 (6)	9,70 ± 0,32 (6)	+ 1,20 P < 0,01	+ 0,35 P < 0,4	— 0,85 P < 0,05
Na	3,36 ± 0,063 (6)	3,22 ± 0,071 (6)	3,72 ± 0,495 (6)	— 0,14 P < 0,2	+ 0,36 P < 0,5	+ 0,50 P < 0,4

Hydrocortison hat also am Muskel adrenaletomierter Tiere ebenso gewirkt wie Desoxycorticosteron.

5) *Versuche zur Beeinflussung des Elektrolytgehaltes des Muskels durch veränderte Elektrolytverhältnisse im Milieu.*

Nachdem, wie in Abschnitt 1) mitgeteilt, festgestellt worden war, dass Diaphragmen adrenaletomierter Tiere einen höheren K- und einen niedrigeren Na-Gehalt aufweisen als die Muskeln normaler Tiere, wurden Versuche gemacht, um die Ursachen dieser Erscheinung zu analysieren. Da die Resultate dieser Vorversuche für die Diskussion der sub 1) bis 4) mitgeteilten Ergebnisse nicht ganz irrelevant sind, seien sie hier kurz mitgeteilt:

Es galt abzuklären, ob durch Verschiebung des Na-K-Verhältnisses in der Ringerlösung in derselben Richtung wie dies im Serum bei Nebenniereninsuffizienz geschieht, eventuell eine ähnliche Veränderung des Na-K-Verhältnisses im Muskel erreicht werden kann, wie bei adynamen Tieren tatsächlich beobachtet worden ist.

Als Versuchstiere wurden 9 weibliche Ratten im Alter von 10 Monaten verwendet. Vor dem Versuch wurden sie wie üblich für 24 Stunden gehungert. Der vertebrale Mittelteil des Diaphragma diente zur Bestimmung des Anfangsgehaltes an Na und K. Der eine Seitenteil wurde 60 Minuten bei 37° C in Krebs-Ringerlösung

gehalten, der andere Seitenteil in einer Ringerlösung, deren K-Gehalt von 5.9 auf 12.8 meq/l erhöht, und deren Na-Gehalt von 145 auf 121.7 meq/l verringert worden war entsprechend Serumanalysen an schwer adynamen Tieren (4). In einer solchen Ringerlösung hatte VÖGTLI (11) nachgewiesen, dass auch Diaphragmen normaler Tiere schnell Zeichen einer Adynamie entwickeln, d.h. dass eine wesentliche Ursache der Muskelschwäche nebennierenloser Tiere das im Serum verschobene Verhältnis von Na und K ist.

TABELLE V

Veränderung des Na- und K-Gehaltes (meq/100 g) von Diaphragmen in Versuchen mit « Vögtli »-Ringerlösung (11).

(121,7 meq/l Na, 12,8 meq/l K)
Normale ♀♀ (10 Monate alt)

	Anfangsgehalt		Nach 60 Minuten in:			
			Krebs-Ringer		Vögtli-Ringer	
	Na	K	Na	K	Na	K
1)	4,05	8,66	4,09	8,28	3,61	8,87
2)	3,87	8,90	3,96	8,67	3,83	8,80
3)	3,65	8,64	4,26	8,23	4,00	8,46
4)	3,96	9,23	4,00	9,08	3,57	9,66
5)	4,09	8,87	3,83	9,00	3,09	10,13
6)	3,92	9,23	3,96	9,18	3,31	9,77
7)	4,17	9,64	4,17	9,44	3,65	10,02
8)	3,78	9,62	3,92	9,10	3,78	9,56
9)	4,22	9,02	4,30	8,92	3,44	9,85
M =	3,97	9,09	4,05	8,88	3,58	9,45

(1) (2) (3) (4) (5) (6)

Differenz (3) — (5) = — 0,47 meq P < 0,05

» (6) — (4) = + 0,58 meq P < 0,05.

Wie aus den in Tabelle V zusammengestellten Analyseergebnissen hervorgeht, steigt der K-Gehalt der Muskeln an, wenn der K-Gehalt in der Aussenflüssigkeit etwas erhöht wird; ebenso sinkt der Na-Gehalt ab bei Verminderung des Na-Gehaltes der Ringerlösung. Die nach einstündigem Aufenthalt in der veränderten Ringerlösung erhaltenen Analyseergebnisse sind gut vergleichbar

mit dem Anfangsgehalt der Diaphragmen adynamer Tiere. Diese Versuche über den Einfluss der Elektrolytzusammensetzung der Aussenflüssigkeit auf den Muskelstoffwechsel (Elektrolyt- und Kohlehydratstoffwechsel) sollten fortgesetzt werden.

Diskussion. Die Untersuchungen haben ergeben, dass das Diaphragma adrenalektomierter, adynamer Ratten mehr K und weniger Na enthält als bei normalen Tieren. Dieser Befund wurde schon von HARRISON und DARROW (2, 3) bereits 1938 gemacht. Dieselben Verhältnisse können, wie in einer kurzen Versuchsserie gezeigt wurde, nachgeahmt werden, indem Muskeln normaler Tiere, die in einer Ringerlösung mit erhöhtem K und vermindertem Na gehalten werden, nach einer Stunde ähnliche Elektrolytverhältnisse aufweisen, wie frisch einem adynamen Tier entnommene Muskeln. Dieser Befund ist insofern wichtig, als er demonstriert, wie die im Muskel adrenalektomierter Tiere gefundenen Elektrolytverhältnisse nicht nur als eine an der Muskelzelle direkt angreifende Folge des Ausfalls an Corticosteron zu verstehen ist; der Elektrolythaushalt (und der Kohlehydratstoffwechsel?) der Muskelzelle steht ebenfalls unter dem Einfluss der Folgen des durch den Ausfall an Corticosteroiden veränderten Elektrolytstoffwechsels des Nierengewebes (Abnahme der K-Ausscheidung und verminderte Na-Rückresorption führen zu erhöhten Plasma-K- und verminderten Plasma-Na-Werten).

Der K-Gehalt des Diaphragma adrenalektomierter, adynamer Ratten sinkt in glukosefreier Ringerlösung, sein Na-Gehalt nimmt zu. Bei Zusatz von Glukose vermag der Muskel den K-Gehalt über den hohen Anfangsgehalt hinaus zu steigern, der Na-Gehalt kann allerdings nicht weiter verringert werden. Der Elektrolytaustausch, gemessen an der Na^{24} - und K^{42} -Aufnahme ist mit und ohne Glukose gleich. Diese Ergebnisse unterscheiden sich von den an normalen Ratten gewonnenen Resultaten (1): Die Diaphragmen normaler Tiere zeigen in Glukose neben der K-Stapelung auch eine Verminderung des Na-Gehaltes und diese Gehaltsänderungen sind begleitet von entsprechenden Änderungen der Austauschwerte (Na^{24} - und K^{42} -Aufnahme). Das Unvermögen, in Glukose vermehrt Na abzugeben, ist vielleicht mit dem niedrigen Anfangsgehalt der Diaphragmen adrenalektomierter Tiere zu erklären, der bei diesen Versuchsbedingungen nicht unterschritten werden kann.

Wie beim Muskel normaler Tiere verhindert DOC auch am Zwerchfell adrenaletomierter Ratten den Glukoseeffekt. Der Muskel in Glukose-Ringer + DOC verhält sich, als ob keine Glukose vorhanden wäre, Kalium tritt aus dem Muskel aus und Na wird aufgenommen.

Zusatz von Hydrocortison zur Glukose-Ringerlösung bewirkt beim Diaphragma adrenaletomierter Tiere dieselben Elektrolytverschiebungen wie DOC. Man findet eine Abnahme von K und eine Zunahme des Muskel-Na. Die zur selben Zeit am Diaphragma normaler Tiere durchgeführten Versuche mit Hydrocortison ergaben ein völlig anderes Resultat (1): Bei Zusatz von Hydrocortison zu Glukose-Ringerlösung stieg der K-Gehalt und die K^{42} -Aufnahme der Muskeln stärker an als in Glukose-Ringer allein und der Na-Gehalt und die Na^{24} -Aufnahme wurden stärker verringert. Hydrocortison hat also am Muskel der adrenaletomierten, adynamen Ratte eine ganz andere Wirkung als am Muskel des normalen Tieres: Beim „adynamen“ Muskel führt dieses Corticoid wie DOC zu einer Depolarisation (Verminderung der Konzentrationsunterschiede innen-aussen), beim „normalen“ Muskel bewirkt Hydrocortison eine gesteigerte Polarisation (Vergrößerung der Konzentrationsunterschiede innenaussen).

Ich möchte an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. F. VERZÁR herzlich danken für das stete Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat.

Die Arbeit wurde durchgeführt mit Mitteln des Schweizerischen Nationalfonds.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Das Diaphragma adrenaletomierter, adynamer Ratten enthält mehr Kalium und weniger Natrium als bei normalen Ratten.

2. Dieselben Verhältnisse kann man beim Diaphragma normaler Tiere erreichen, wenn man den Muskel eine Stunde in einer Ringerlösung hält mit analogen Na- und K-Konzentrationen, wie sie im Serum adynamer Tiere gefunden werden.

3. In Gegenwart von Glukose vermag das Diaphragma adynamer Ratten noch mehr Kalium aufzunehmen, sein Natriumgehalt wird jedoch nicht weiter vermindert. In Ringerlösung ohne Glukose tritt K aus dem Muskel aus und Na wird aufgenommen.

4. Dasselbe Resultat ergibt sich, wenn zur Glukose-Ringerlösung Desoxycorticosteron gegeben wird. Das Diaphragma adynamischer Ratten verhält sich in dieser Beziehung wie das normaler Tiere.

5. Bei Zusatz von Hydrocortison zur Glukose-Ringerlösung, das beim normalen Tier eine verstärkte K-Aufnahme und Na-Abgabe bewirkt, wird beim Diaphragma adrenaletomierter Tiere dasselbe beobachtet wie bei Zusatz von DOC; der Muskel gibt K ab und nimmt Na auf.

SUMMARY.

1. The diaphragm of adrenalectomized, adynamic rats was found to contain more K and less Na than the same muscle in normal controls.

2. If normal muscles are kept for an hour in an altered Ringer solution with a Na/K ratio as found in the plasma of adynamic rats, their Na and K content reaches the same values as found in muscles of adynamic animals.

3. In glucose Ringer the diaphragms of adynamic rats increase their K content but are unable to reduce the Na content. In Ringer without glucose the muscle loses K and gains Na.

4. The same result is found when *Deoxycorticosterone* is added to glucose-Ringer. This is in agreement with the results found in experiments with normal muscles.

5. If *Hydrocortisone* is added to glucose Ringer, under which conditions the normal muscle further increases its K content and still further decreases its Na content, the muscles of adynamic rats lose K and gain Na, just as if *Deoxycorticosterone* had been added.

LITERATUR

- 1) FLÜCKIGER, E. und VERZÁR, F., *Helv. Physiol. Acta* **15**, 293-303 (1957).
- 2) HARRISON, H. E. und DARROW, D. C., *J. clin. Invest.* **17**, 77-86 (1938).
- 3) — — *Amer. J. Physiol.* **125**, 631-643 (1939).
- 4) HARRISON, H. E. und HARRISON, H. C., *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.* **42**, 506-508 (1939).
- 5) HASTINGS, A. B. et al., *J. biol. Chem.* **129**, 295-301 (1939).

- 6) KREBS, H. A. und HENSELEIT, K., Hoppe-Seylers Z. 210, 32-46 (1932).
 - 7) LEUPIN, E. und VERZÁR, F., Helv. Physiol. Acta 8, C 27-C 30 (1950).
 - 8) MENTHA, J., VÖGTLI, W. und VERZÁR, F., Helv. Physiol. Acta 6, 853-862 (1948).
 - 9) VERZÁR, F., «*Die Funktion der Nebennierenrinde*». B. Schwabe, Basel 1939.
 - 10) — «*The suprarenal cortex*». 5th Symp. Colston Res. Soc., p. 39-54, London 1952.
 - 11) VÖGTLI, W., Helv. Physiol. Acta 8, 74-78 (1950).
-

La dissociation medullo-corticale dans l'organogenèse des glandes génitales des amphibiens et le problème des gonades vestigiales chez certains vertébrés

par

L. GALLIEN

(Laboratoire d'Embryologie, Faculté des Sciences de Paris)

Il est classique de concevoir la gonade des Vertébrés tétrapodes comme fondamentalement bisexuée dans les stades initiaux de son développement. Deux territoires, l'un périphérique le cortex ayant la valeur d'un inducteur gynogène, l'autre axial la medulla représentant l'élément inducteur androgène, sont mis en place au cours de l'embryogenèse. Ainsi et dans un premier temps se trouve réalisé le stade de la gonade indifférenciée. Celle-ci pourra évoluer dans le sens mâle ou femelle au cours du second temps de l'organogenèse génitale, selon la prévalence de l'un des territoires inducteurs et l'involution de l'autre. La différenciation sexuelle finale est la résultante de l'antagonisme medullo-cortical. Ajoutons que les gonocytes, localisés primitivement dans l'épithélium germinatif cortical, coloniseront la medulla (évolution mâle) ou demeureront dans le cortex (évolution femelle). Leur cyto-différenciation en spermatogonies ou ovogonies s'effectuera conformément à la nature du territoire inducteur où ces gonocytes végéteront.

Ces faits peuvent être considérés comme bien établis, chez les Amphibiens en particulier, où l'on a pu d'une part réaliser l'inversion totale et physiologiquement fonctionnelle du sexe génétique, et d'autre part démontrer par des croisements entre sujets de même

sexe génétique le bien fondé de la conception « homogamétie-hétérogamétie » du sexe.

Il restait cependant dans nos interprétations de l'embryogenèse causale des gonades un point dont l'analyse est beaucoup moins avancée. Il s'agit de la réalisation de l'état indifférencié de la gonade, dans le premier temps de son développement. La mise en place des territoires médullaire et cortical réalise une relation $\frac{\text{medulla}}{\text{cortex}}$ caractérisée par la masse de chaque territoire ainsi que par les relations spatiales et temporelles de ces deux éléments.

On peut se demander quelle serait l'évolution d'une gonade pour laquelle ce rapport serait altéré d'emblée, par exemple par la déficience totale ou subtotale du composant médullaire? Se trouverait-on ramené à l'évolution résultant du jeu antagoniste des deux territoires inducteurs, telle qu'elle se produit dans la phase de différenciation et où la prévalence de l'un des composants du couple inducteur assure l'évolution mâle ou femelle? En d'autres termes et pour reprendre l'exemple évoqué ci-dessus d'un déficit médullaire, obtiendrait-on dans ce cas une glande femelle se développant selon un rythme normal indépendamment du sexe génétique de l'individu?

ANALYSE DE L'EFFET PARADOXAL DES STÉROÏDES ANDROGÈNES CHEZ LES URODÈLES.

Nous avons été amenés à aborder ce problème, voici quelques années (GALLIEN 1954) à la suite de l'étude de certains effets paradoxaux des hormones stéroïdes sexuelles chez les Amphibiens. L'exemple le plus suggestif est fourni par l'action de l'hormone mâle chez les Urodèles (FOOTE 1941, GALLIEN 1954). Chez *Pleurodeles waltii* où j'ai particulièrement analysé cette action, on constate les faits suivants. L'hormone mâle (propionate de testostérone) administrée pendant toute la vie larvaire aux animaux, entraîne une inhibition profonde du développement des gonades dans les deux sexes. Le mésonéphros présente des lésions plus ou moins poussées. L'examen histologique des gonades vestigiales montre que dans celles-ci le tissu médullaire est pratiquement absent. Le cortex est partiellement inhibé, le nombre de gonocytes

réduit. Au cours du développement post-larvaire et après cessation du traitement hormonal, la gonade reprend très lentement sa croissance et finalement au bout de deux ans, un ovaire fonctionnel se trouve édifié dans 100% des cas. En somme le traitement androgène supprime le composant médullaire par une action pathogène. Celle-ci retentit également sur le mésonéphros, provenant comme la medulla du blastème rénal. Le composant somatique qui demeure dans la gonade est le cortex. Celui-ci réduit se développera et, hébergeant les gonocytes, induira ceux-ci à subir la cytodifférenciation en ovogonies. Ainsi s'explique ce phénomène qualifié de paradoxal.

En reprenant l'analyse de l'expérience il apparaît qu'elle est susceptible de deux interprétations permettant de rendre compte du caractère vestigial de la gonade à la métamorphose. On peut admettre que l'action pathogène de l'hormone mâle s'exerce sur les deux composants de la gonade, mais d'une manière différentielle. Elle entraîne la destruction totale de la medulla, l'inhibition partielle du cortex. Enfin elle freine la multiplication des gonies primordiales. C'est cette explication que j'ai retenue d'abord. On peut supposer cependant que l'effet androgène primaire s'exerce sur la mise en place et la différenciation du blastème mésonéphrétique, entraînant en particulier cette inhibition médullaire si caractéristique. Mais l'hormone mâle n'aurait pas nécessairement d'effet direct sur le cortex primitif peuplé des gonies primordiales, la déficience corticale aboutissant en somme à réaliser un rapport $\frac{\text{medullo}}{\text{cortical}}$ tendant vers une certaine constance.

En d'autres termes, il ne pourrait y avoir dans le premier temps d'édification d'une gonade, un développement normal du cortex en l'absence de medulla. Le déficit cortical se traduit à son tour sur la multiplication des gonocytes en entraînant une chute du taux des mitoses goniales.

DISSOCIATION MEDULLO-CORTICALE EXPÉRIMENTALE.

Ces hypothèses m'ont incité à confier à un élève Ch. HOUILLON (1953-1956) la conduite d'une expérience dont le but était de réaliser, directement et électivement l'inhibition médullaire, sans faire intervenir un agent pathogène, dont on peut toujours penser

qu'il agit simultanément à des degrés divers sur les trois constituants du système germinal: medulla, cortex, gonies. Des expériences préliminaires avaient montré que chez le Pleurodèle, l'uretère primaire exerçait un effet d'induction sur le blastème mésonéphrétique lors de la constitution du rein. On pouvait donc imaginer que la chute de l'action inductrice consécutive à l'absence de l'uretère primaire se traduirait par une inhibition de l'apport médullaire au cours du premier temps de l'édification des gonades, aboutissant à l'état indifférencié.

Grâce à un obstacle mécanique constitué par un greffon d'ectoderme implanté en arrière du pronéphros, on empêche la poussée de l'uretère primaire vers le futur cloaque. L'opération unilatérale est faite au stade neurula (90 heures). Dans ces conditions seuls des vestiges très réduits de gonades s'édifient. Ils sont situés au niveau des quelques nodules mésonéphrétiques présents. Parfois l'agénésie de la gonade est totale. On réalise une situation comparable à celle qu'impose un traitement hormonal androgène. Les gonades vestigiales qui se développent sont des ovaires ou des testicules. Il faut donc admettre que des éléments médullaires discrets ont pu venir au contact de l'épithélium germinatif du côté opéré. Ceci est, en vérité, corroboré par le fait que les gonades vestigiales s'édifient au niveau de nodules mésonéphrétiques eux-mêmes vestigiaux.

L'évolution des gonies est intéressante à suivre. Au début de l'édification des gonades et jusqu'au 25^e jour, il existe de chaque côté du corps, une cinquantaine de gonies dans la crête génitale. Ceci montre que l'opération ne lèse pas initialement la crête génitale du côté opéré. Par la suite, du côté normal le nombre des gonies augmente rapidement, il est de l'ordre de 400 chez les larves de 50 jours, Au même âge ce nombre est tombé à 35 du côté opéré. Cette chute va de pair avec l'inhibition du développement cortical.

Pendant la vie larvaire et après la métamorphose les gonades vestigiales n'évoluent pas s'il s'agit de testicules. A deux ans la glande demeure extrêmement réduite, les mitoses goniales sont rares, les cellules germinales restent au stade de spermatogonies primaires, la plupart disparaissent. Dans le cas d'ovaires, nous observons une croissance très lente. Les ovocytes peu nombreux d'abord, se multiplient et effectuent leur vitellogenèse. Finalement un petit ovaire se constitue. Celui-ci demeure très réduit, même

chez un adulte de 18 mois. Le parallélisme avec ce qui se passe dans l'effet paradoxal dû à un traitement androgène est frappant. Le point essentiel est que dans les deux cas on obtient une gonade vestigiale. L'explication du résultat paraît assez simple lorsqu'il s'agit d'un testicule, se développant après blocage de l'uretère primaire. Dans ce cas le déficit du territoire médullaire de valeur androgène, entraîne l'absence du développement testiculaire. Pour comprendre l'inhibition du développement ovarien, il faut admettre que le cortex ne peut se développer normalement en cas de déficit marqué de medulla, en d'autres termes qu'un rapport $\frac{\text{medullo}}{\text{cortical}}$ d'une certaine constance, tend à se réaliser au cours de l'édification de la gonade indifférenciée.

LES GONADES VESTIGIALES NATURELLES ET LEUR INTERPRÉTATION.

Les expériences relatives à l'effet paradoxal et au blocage de l'uretère primaire chez les Urodèles sont de nature à nous éclairer sur l'interprétation de deux phénomènes curieux observés dans la gonadogenèse des Vertébrés. Nous voulons parler de l'organe de Bidder des Crapauds et de l'ovaire droit de la Poule et de la plupart des Oiseaux.

Cas de l'organe de Bidder des Crapauds.

Chez les Crapauds et singulièrement chez *Bufo vulgaris* où les faits ont été soigneusement analysés, il existe à l'apex des gonades dans les deux sexes, une formation ovarienne vestigiale, le corps de Bidder. L'étude de l'organogenèse des glandes génitales révèle que dans la future région bidderienne aucun cordon sexuel médullaire ne pénètre. Selon WITSCHI (1933), ce déficit en territoire inducteur androgène, laisse seul en place le cortex. Celui-ci évolue en conséquence en ovaire mais reste vestigial et donne le corps de Bidder. On sait depuis les belles expériences de HARMS (1921-1926) et PONSE (1925-1927) que la castration dans les deux sexes de la gonade fonctionnelle lève cette sorte d'inhibition exercée par celle-ci sur le corps de Bidder. Ce dernier après une telle opération évolue lentement en un ovaire qui devient fonctionnel. Il faut noter que l'opération a été faite sur des adultes ou de jeunes animaux, mais

toujours bien après la différenciation testiculaire ou ovarienne de la gonade normale. Il faut encore retenir que lors de l'organogenèse des gonades, le corps de Bidder se différencie en ovaire, avant le reste de la gonade que pour la commodité de l'exposé nous qualifierons de normale. On ne peut donc pas parler à ce stade d'une inhibition de celle-ci sur l'ovaire bidderien. On comprend mal que chez une femelle l'ovaire fonctionnel puisse exercer une inhibition sur le petit élément ovarien bidderien. La conclusion est que si le corps de Bidder chez une femelle n'évolue pas après la métamorphose en ovaire vrai, c'est que ovaire bidderien et ovaire normal n'ont pas exactement la même valeur organogénétique.

On peut à la suite des expériences de HOUILLON rapportées ci-dessus, proposer une interprétation satisfaisante de l'édification du corps de Bidder. C'est parce que dans la région apicale bidderienne, il n'existe pas, au cours du stade indifférencié, de constituant médullaire que le cortex évolue en ovaire bidderien d'une part; c'est d'autre part l'absence de territoire androgène qui maintient au cours de la différenciation générale du sexe, le territoire cortical ovarien de la région bidderienne en son état vestigial.

Il est possible que plus tard la gonade normale fonctionnelle relaie cette inhibition primitive, par exemple en monopolisant l'effet des gonadotrophines hypophysaires, lorsque l'hypophyse est devenue pleinement fonctionnelle. A cet égard HOUILLON a réalisé une expérience qui rappelle celles de HARMS et PONSE. Si chez des Pleurodèles opérés comme nous l'avons exposé et possédant d'un côté une gonade vestigiale, on pratique l'ablation de la gonade normale, on assiste alors au développement du testicule ou de l'ovaire vestigial présents du côté opéré. Si dans une telle expérience, on réalise simultanément l'hypophysectomie de l'animal, les gonades vestigiales demeurent bloquées en cet état.

Cas de l'ovaire droit chez la Poule.

On sait que la plupart des Oiseaux et plus spécialement la Poule présentent une disposition anatomique particulière des gonades femelles. Il existe un seul ovaire fonctionnel à gauche et un ovaire rudimentaire à droite. Cette asymétrie se réalise au cours de l'organogenèse et de la différenciation des gonades entre le troisième et le huitième jour de l'incubation.

Le développement de la gonade droite chez la Poule est caractérisé par les faits suivants. Une première poussée de cordons médullaires s'effectue et met en place l'équivalent d'un territoire inducteur androgène. Cependant le cortex reste vestigial et la seconde poussée de cordons sexuels de signification gynogène n'a pas lieu. Au total il se réalise à droite dans un organisme femelle, une déficience du composant cortical gynogène. On observe corrélativement une chute marquée du nombre des gonocytes du côté droit. En même temps la gonade reste vestigiale et la medulla n'évolue pas. Cependant si on castré une jeune femelle peu après l'éclosion (BENOIT 1923-1932) le territoire de potentialité mâle se développe en une formation testiculaire, et ce testicule montre parfois des spermatozoïdes. Il est naturellement assez séduisant de rapprocher ces phénomènes dont l'effet primaire est là encore une rupture de l'équilibre medullo-cortical initial (ici c'est le cortex qui est défaillant) des cas que nous venons d'évoquer.

En conclusion, l'analyse des expériences faites chez les Amphibiens et au cours desquelles on réalise expérimentalement une dissociation medullo-corticale dans la mise en place des deux territoires inducteurs de la gonade embryonnaire, montre qu'il existe une relation d'activités synergétiques entre cortex et medulla, dans un premier temps du développement de la gonade embryonnaire. Un déficit médullaire est suivi d'un hypodéveloppement cortical. Ultérieurement lorsque la gonade est différenciée des interventions, telles des castrations réalisées selon diverses modalités, permettent au composant demeuré vestigial de manifester un réveil de son développement. L'analyse des processus permet de proposer une interprétation rationnelle de l'existence de certaines formations de gonades vestigiales naturelles chez les Vertébrés, en particulier de l'organe de Bidder des Crapauds et de l'ovaire droit des Oiseaux.

Qu'il me soit permis en proposant ces quelques réflexions, de les offrir en hommage à Kitty PONSE qui a apporté une si brillante contribution à ce problème.

BIBLIOGRAPHIE

- BENOIT, J. 1923. *Transformation du sexe par ovariectomie précoce chez la poule domestique*. C. R. Acad. Sc. 177: 1074.
- 1932. *L'inversion sexuelle de la poule déterminée par l'ablation de l'ovaire gauche*. Arch. Zool. exp. et gén. 73: 1.
- FOOTE, C. L. 1941. *Modification of sex-development in the marbled Salamanders by administration of synthetic sex-hormones*. J. Exp. Zool. 85:291.
- GALLIEN, L. 1954. *Inversion expérimentale du sexe sous l'action des hormones sexuelles chez le Triton Pleurodeles waltii Michah. Analyse des conséquences génétiques*. Bull. Biol. France et Belgique. 88: 1.
- HARMS, J. W. 1921. *Verwandlung des Bidderschen Organes in ein Ovarium beim Männchen von Bufo vulgaris*. Zool. Anz. 53: 253.
- 1926. *Beobachtungen über Geschlechtsumwandlung reifer Tiere und deren F₂ Generation*. Zool. Anz. 67: 79.
- HOUILLOIN, Ch. 1953. *Agenésie unilatérale du mésonépros et développement de la gonade chez Pleurodeles waltii Michah*. C. R. Acad. Sc. 236: 1079.
- 1956. *Recherches expérimentales sur la dissociation medullo-corticale dans l'organogenèse des gonades chez le Triton, Pleurodeles waltii Michah*. Bull. Biol. France et Belgique. 90: 359.
- PONSE, K. 1925. *Ponte et développement d'œufs provenant de l'organe de Bidder d'un crapaud mâle féminisé*. C. R. Soc. Biol. 92: 592.
- 1927. *L'évolution de l'organe de Bidder et la sexualité chez le Crapaud*. Rev. Suisse Zool. 34: 217.
- WITSCHI, E. 1933. *The nature of Bidder's organ in the toad*. Amer. J. Anat. 52: 461.
-

Sur le rôle de la Vasopressine comme Médiateur possible de la Décharge d'ACTH.

par

Roger GUILLEMIN

Department of Physiology
Baylor University College of Medicine
Houston, Texas, U.S.A.

*En l'honneur de Mademoiselle
le Professeur K. Ponse*

Il est maintenant bien établi que, lorsqu'il est soumis à un traumatisme ou lorsqu'il est exposé aux effets d'un quelconque stimulus anormal (c'est-à-dire non physiologique dans sa nature ou son intensité), l'homme ou l'animal expérimental présente une série de réactions endocriniennes caractéristiques qui, en particulier, se traduisent par une stimulation de la décharge d'hormone adrénocorticotrophique adénohypophysaire (ACTH) et, secondairement, des hormones corticosurréaliennes (corticostérone, 17hydroxycorticostérone, 11déhydro17hydroxycorticostérone suivant les espèces). Le mécanisme ou les mécanismes responsables de cette augmentation soudaine de la décharge d'ACTH ne sont pas établis avec certitude. Ni la première hypothèse de SELYE faisant de la sécrétion d'ACTH la réponse univoque à un quelconque catabolite périphérique suscité par le trauma, ni les théories successives de SAYERS, de LONG et VOGT faisant intervenir soit le niveau des corticoïdes circulants soit l'adrénaline sympathico-médullaire n'ont apporté les preuves nécessaires et suffisantes à établir leur validité exclusive et respective. L'hypothèse qui à l'heure actuelle semble être en accord avec le plus grand nombre de faits expérimentaux et cliniques est celle de la participation d'un relais hypothalamique

dans la stimulation de l'antéhypophyse par le stress. Or, il semble bien établi que l'activation de l'hypophyse antérieure ne peut être due à la transmission par des fibres d'origine diencéphalique d'un stimulus nerveux (comme dans le cas de la décharge de la médullo-surrénale par exemple), car le parenchyme antéhypophysaire est pratiquement dénué de fibres nerveuses à l'exception des filets sympathiques peri-artériolaires. L'hypothèse d'une liaison hypothalamo-hypophysaire neurohumorale semble donc la seule alternative. Originellement proposée par HINSAY pour les gonadotrophines puis reprise par HARRIS et HUME pour l'ACTH, elle est maintenant bien établie sur un nombre important de constatations anatomiques et expérimentales. Ainsi, l'exposition au stress stimulerait certains noyaux hypothalamiques qui déchargeraient dans le plexus primaire du système porte hypothalamo-hypophysaire un médiateur chimique, une neuro-humeur qui à son tour contrôlerait la décharge d'ACTH (voir HARRIS, 1955; FIELDS, GUILLEMIN et CARTON, 1956). L'adrénaline, l'acétylcholine, l'histamine, la sérotonine (5-hydroxytryptamine) proposées tour à tour comme médiateurs possibles ont été successivement éliminées, leur participation exclusive dans la décharge d'ACTH n'ayant jamais pu être démontrée (GUILLEMIN, 1955, 1957). Quoiqu'elles n'excluent pas la participation possible des substances ci-dessus, deux hypothèses principales sur la nature du médiateur ultime de la décharge d'ACTH ont une approche différente: l'une propose la vasopressine comme médiateur hypothalamique de la stimulation antéhypophysaire (MIRSKY, STEIN et PAULISCH, 1955; McCANN, 1956, 1957); l'autre, qui rejette les arguments de celle-ci et propose une substance différente des médiateurs connus. Cette substance aurait été récemment isolée sous une forme impure mais telle cependant qu'on ait pu montrer que son activité n'était due à aucune des autres neurohumeurs mentionnées plus haut (GUILLEMIN, 1955, 1957; SAFFRAN, SCHALLY et BENFEY, 1955).

Voyons comment et pourquoi un rôle de la vasopressine dans le mécanisme de la décharge corticotrophique a pu être présenté et défendu.

Une origine hypothalamique de la vasopressine est indubitable. Une substance à activités pharmacologiques semblables à celles de la vasopressine d'origine post-hypophysaire peut être facilement démontrée dans les noyaux de l'hypothalamus antérieur (noyaux

supra-optique et para-ventriculaire) (VAN DYKE, ADAMSONS et ENGEL, 1957). Quoiqu'il y ait encore bien des questions sur les mécanismes de biogénèse et de transport dans l'hypophyse postérieure (GREEN et VAN BREEMEN, 1955), la théorie de la neuro-sécrétion (SCHARRER et SCHARRER, 1954) fait de la vasopressine un produit de sécrétion de certaines cellules (HILD, 1956) des noyaux supra-optiques qui migrerait jusqu'à l'hypophyse postérieure dans ou alentour des axones des fibres non myélinisées du faisceau supraoptico-posthypophysaire décrit par CAJAL. L'école de la neuro-sécrétion a montré que l'activité hormonale était liée à des figures histologiques particulières obtenues après la coloration de Gomori (BARGMANN, 1957). Nous aurons l'occasion de mentionner plus loin cette « substance Gomori positive ».

Le contenu de l'hypothalamus en vasopressine (mesuré par l'activité antidiurétique d'extraits salins ou acétiques) varie d'une façon dynamique avec l'état de stress de l'animal; il augmente après administration de glucocorticoïdes (cortisone, hydrocortisone), diminue après surrénalectomie bilatérale (GAUNT, LLOYD et CHART, 1957). Ces variations dynamiques du contenu hypothalamique en hormone antidiurétique peuvent être rapprochées des changements correspondants dans la sécrétion d'ACTH: quand la sécrétion d'ACTH augmente, la concentration hypothalamique (et posthypophysaire) en substance antidiurétique diminue; quand la sécrétion d'ACTH diminue (comme après l'administration de cortisone), la concentration de cette même substance antidiurétique augmente au niveau de l'hypothalamus. Les variations de l'activité antidiurétique dans le tissu nerveux ou posthypophysaire sont accompagnées de changements parallèles de la substance Gomori-positive (GAUNT, LLOYD et CHART, 1957). Le stress d'autre part s'accompagne chez l'animal expérimental en hydratation forcée, d'une diminution considérable de la diurèse traduisant, disent les auteurs, une décharge d'hormone antidiurétique. Cette antidiurèse précède dans le temps la sécrétion de l'ACTH et celle des corticoïdes. MIRSKY, STEIN et PAULISCH (1956) ont de plus montré qu'il est possible de mettre en évidence dans le sang périphérique des variations extrêmement rapides de l'activité antidiurétique, après exposition à un stress quelconque, traumatique ou purement émotionnel. 30 secondes après exposition à un bruit intense l'activité antidiurétique du plasma augmente de 120% chez le rat,

puis décroît progressivement pour être pratiquement à son niveau de départ environ 15 minutes après le début du stress. Il en est de même après un stimulus douloureux (faradisation) ou l'injection intrapéritonéale d'histamine.

De même que pour les concentrations au niveau de l'hypothalamus, l'administration de cortisone et la surrénalectomie bilatérale produisent des variations du niveau de l'activité antidiurétique du plasma sanguin, parallèles à leurs effets respectifs sur la décharge d'ACTH (MIRSKY, STEIN et PAULISCH, 1956). Ainsi, dans tous les cas où l'on produit un changement de la sécrétion de l'ACTH observe-t-on dans l'hypothalamus et le sang périphérique les variations dynamiques correspondantes d'une activité antidiurétique apparemment caractéristique de la vasopressine. Les mêmes variations de l'activité antidiurétique du sang périphérique en réponse au stress sont démontrables chez l'animal surrénalectomisé et même hypophysectomisé (MIRSKY, STEIN et PAULISCH, 1956). L'origine exclusive de cette substance antidiurétique n'est donc pas dans l'hypophyse, antérieure ou postérieure.

Chez l'homme, les mêmes auteurs ont pu démontrer des variations similaires du niveau de l'activité antidiurétique du sang périphérique sous l'influence d'un stimulus douloureux, d'un traumatisme chirurgical, de l'électrochoc, du choc insulinaire. Ces variations du taux de l'activité antidiurétique du plasma précèdent toujours la décharge d'ACTH et celle des corticoïdes qui lui correspond.

Récemment McCANN et BROBECK (1954) ont rapporté que les lésions stéréotaxiques (dans l'hypothalamus antérieur) qui inhibent la décharge d'ACTH normalement produite par le stress, interrompent, dans tous les cas, le faisceau supraoptico-posthypophysaire et s'accompagnent toujours de diabète insipide. De plus, la seule préparation qui rétablit la décharge d'ACTH chez ces animaux avec lésion hypothalamique est un extrait du lobe postérieur de l'hypophyse (Pitressine ou Protopituitrine) qui contient le principe antidiurétique. Chez l'animal normal comme chez l'animal « bloqué » par des doses massives d'hydrocortisone, par la morphine combinée au nembutal ou par les lésions hypothalamiques, la décharge d'ACTH mesurée par les variations de la concentration de la surrénale en acide ascorbique montre une relation logarithmique simple avec la dose de pitressine administrée (SAYERS, 1956;

PORTER et RUMSFELD, 1956; McCANN, 1957). Autre point important, toujours avec les variations de la concentration de l'acide ascorbique surrénalien comme indice de la sécrétion d'ACTH, SAYERS montre qu'à une quantité donnée d'unités vasopressives (ou antidiurétiques) sous forme d'une préparation de vasopressine non purifiée (Protopituitrine, Pitressine) ou hautement purifiée (arginine-vasopressine de DU VIGNEAUD) correspond toujours la même décharge d'ACTH (SAYERS, 1956). Chez l'homme, mesurant les 17-hydroxycorticoïdes du sang périphérique, McDONALD et WEISE (1956, 1956 *a*) montrent qu'il en est de même avec la Pitressine (préparation impure du commerce ca. 15 u/mgm), la vasopressine naturelle purifiée (ca. 250 u/mgm), ou la vasopressine synthétique.

Ainsi, le rôle possible de la vasopressine comme médiateur hypothalamique de la décharge d'ACTH semble solidement étayé: la vasopressine est d'origine hypothalamique; sa concentration dans l'hypothalamus et dans le sang périphérique varie en fonction de l'activité adrénocorticotrophique de l'hypophyse antérieure; la décharge centrale de la vasopressine a lieu avant celle de l'ACTH et le niveau de la vasopressine circulante diminue alors que le niveau de l'ACTH périphérique est maximal; l'injection de vasopressine stimule la décharge d'ACTH chez l'animal avec ces lésions hypothalamiques qui bloquent la réponse corticotrophique normale au stress.

Quels sont, en face de ces faits, les arguments de l'école qui n'accepte pas la vasopressine comme médiateur de la décharge adrénocorticotrophique ? Ils sont essentiellement axés sur quatre critiques principales: le manque d'identification indubitable de l'activité antidiurétique mesurée par les divers auteurs dans le sang périphérique, avec la vasopressine, molécule connue; l'absence de signification physiologique des doses de vasopressine utilisées par les divers auteurs pour stimuler la décharge d'ACTH; la relativité de certains des critères utilisés pour affirmer la décharge d'ACTH; la possibilité de relations de structure et d'activité entre la vasopressine et le facteur « spécifique » qui stimule la décharge d'ACTH et le fait qu'aucun des résultats de stimulation mentionnés plus haut n'a été obtenu avec une préparation de vasopressine pure.

Il est difficile de considérer comme physiologiques les doses de vasopressine rapportées dans la littérature et utilisées pour

produire une décharge d'ACTH. La dose minimale de Pitressine qui stimule la décharge d'ACTH chez le rat avec lésions hypothalamiques effectives est 250 μ pour un animal de 300 gr (McCANN, 1957). C'est à peu près la même dose minimale qui, chez l'animal traité à l'hydrocortisone (PORTER et RUMSFELD, 1956) ou avec la combinaison morphine-Nembutal stimule la sécrétion d'ACTH (MUNSON, 1954). Or, cette dose de vasopressine est environ 100 fois plus élevée que celle nécessaire à corriger le diabète insipide secondaire à la lésion hypothalamique du faisceau supraoptico-posthypophysaire. De plus, de telles doses de vasopressine ont, chez le rat de 250 à 300 gr un effet vasopresseur et hypertenseur marqué. Or, l'effet vasopresseur de l'hormone antidiurétique paraît bien être plus un artefact pharmacologique que la traduction d'un effet concomitant à son action physiologique au niveau du tubule rénal. Quelques microunités de vasopressine déterminent chez le rat une antidiurèse mesurable (DICKER, 1953) alors que 2 à 3 milli-unités sont nécessaires pour produire un effet hypertenseur (et encore, chez l'animal anesthésié et sympathectomisé à la Dibénamine). Les doses de Pitressine et de vasopressine utilisées par McDONALD et WEISE, (1956) sont pareillement bien au-delà de la quantité de vasopressine nécessaire et suffisante pour provoquer une antidiurèse marquée (PICKFORD, 1952). De l'avis des auteurs mêmes, les doses de vasopressine administrées aux patients produisaient régulièrement les signes classiques d'un surdosage en extrait du lobe postérieur: vasoconstriction périphérique, céphalées, crampes intestinales ou utérines, nausées, sensations d'angoisse. En présence de tels symptômes il est difficile d'attribuer un rôle spécifique à l'injection de vasopressine chez un sujet normal (sans blocage hypothalamique). Nous avons dernièrement étudié ce problème avec un de nos élèves, Mr. NICHOLS, et nous avons cherché à mettre en évidence une corrélation entre la décharge endogène d'une quantité physiologique d'hormone antidiurétique et une augmentation de la sécrétion d'ACTH. Toutes les expériences ont été conduites chez le chien femelle, entraîné à accepter une surcharge liquidienne par intubation gastrique, et chez qui le débit urinaire est mesuré par un cathéter vésical. Les animaux ont une anse carotidienne préparée sous chirurgie aseptique plusieurs semaines antérieurement et ils sont entraînés à accepter toute la procédure expérimentale sans anesthésie. Une antidiurèse « physiologique » est produite chez ces

animaux par injection intracarotidienne de sérum salé hypertonique d'après les méthodes de VERNEY (1947): il est possible d'obtenir une antidiurèse maximale due à la sécrétion endogène d'hormone antidiurétique sans observer de décharge d'ACTH concomitante ou secondaire comme en témoigne l'absence de variations du niveau des 17-hydroxycorticoïdes plasmatiques mesurés avant l'injection de sérum hypertonique, 15 minutes après (pendant la période d'antidiurèse maximale) et 60 minutes après (pendant la période de retour à la normale du débit urinaire).

Chez ces mêmes animaux, nous avons étudié les doses minimales de vasopressine qui, d'une part, produisent une antidiurèse, et, d'autre part, stimulent la sécrétion d'ACTH endogène. Nous avons utilisé pour ces expériences une lysine-vasopressine hautement purifiée (280 u/mgm) préparée par la méthode de WARD et GUILLEMIN (WARD et GUILLEMIN, 1957). Si une antidiurèse significative est obtenue avec les doses de vasopressine allant de 0,1 à 2 mu (injectées dans la carotide chez un chien de 20 kg) il faut donner 50 à 100 fois plus (150 à 250 mu suivant les animaux) par la même voie pour observer une augmentation des 17-hydroxycorticoïdes circulants, traduisant une décharge d'ACTH. Dans tous les cas où l'injection de vasopressine stimule la sécrétion d'ACTH on peut observer, avec une inhibition massive de la diurèse allant jusqu'à l'anurie complète pendant 30 à 60 minutes, des signes certains de vasoconstriction qui n'accompagnent jamais l'antidiurèse « physiologique » en réponse au sérum salé hypertonique ou aux doses correspondantes de vasopressine.

On peut reprocher à ces expériences de faire appel à des critères périphériques d'activité de l'ACTH et de la vasopressine dont les seuils de sensibilité sont peut-être très différents. Des expériences préliminaires indiquent cependant qu'il est possible d'observer une augmentation des corticoïdes périphériques sans l'antidiurèse qui correspondrait à la dose de vasopressine exogène nécessaire à produire une augmentation identique des corticoïdes. L'antidiurèse qui accompagne parfois la décharge d'ACTH due au stress est inférieure à celle qui suit l'injection de sérum salé hypertonique et qui cependant n'est jamais suivie de sécrétion d'ACTH, avec les mêmes critères et dans les mêmes conditions expérimentales.

Ces expériences montrent donc qu'il est possible de dissocier les deux phénomènes, décharge d'hormone antidiurétique et

décharge d'hormone adrénocorticotrophique. Si la sécrétion de celle-ci peut suivre l'injection de vasopressine, il faut donner des quantités du principe antidiurétique bien en excès des doses nécessaires et suffisantes à produire une antidiurèse physiologique. En fait, les doses de vasopressine nécessaires à produire une décharge d'ACTH sont telles qu'il y aurait incompatibilité quasi complète entre un quelconque débit urinaire et une augmentation des corticoïdes périphériques en cas de stress, ce qui n'est pas le cas.

On a d'autre part argué que les doses de vasopressine données dans la circulation périphérique et nécessaires pour stimuler l'ACTH peuvent être sans signification quand on les compare à ce qui peut être déchargé dans le système porte hypothalamo-hypophysaire et qu'en fait, la part qui atteint l'hypophyse antérieure, de ce qui est injecté à la périphérie, n'est probablement pas en excès de ce qui peut être libéré localement par le stress. Ce point de vue est maintenant difficile à soutenir en vue de nos expériences avec le sérum salé hypertonique où l'hormone antidiurétique, produisant l'antidiurèse est libérée au niveau de l'hypophyse même. De plus, l'argument rappelé plus haut admet sans autre qu'il existe une décharge de vasopressine dans les vaisseaux portes. C'est là cependant un mécanisme dont la possibilité ne semble pas avoir jamais été démontrée. Les études récentes de LANDSMEER et JEWELL (LANDSMEER, 1951; JEWELL, 1956) sur certains vaisseaux courts joignant le lobe neural à la pars distalis de l'hypophyse antérieure sont peut-être le seul substrat anatomique possible pour un tel mécanisme car les communications entre plexus primaire du système porte hypothalamo-hypophysaire et fibres du faisceau supraoptico-posthypophysaire semblent rien moins qu'abondantes ou même évidentes.

Sur la base d'études chez le chien avec lésions hypothalamiques stéréotaxiques discrètes, HUME a rapporté avoir spécifiquement inhibé la décharge d'ACTH sans avoir pour autant lésé le système supraoptico-posthypophysaire et de ce fait n'avoir pas produit de diabète insipide (HUME, 1957). Il s'agit là d'une contribution importante, mise en face de la lésion massive pratiquée chez le rat par McCANN et qui lèse avec le faisceau supraoptico-hypophysaire toute la région de l'éminence médiane, la partie rostrale du tuber avec tous les systèmes de connexion neuro-vasculaires qui s'y trouvent. D'ailleurs on a rapporté des niveaux normaux des

17-hydroxycorticoïdes et des variations normales en réponse au stress chez des malades atteints de diabète insipide. Et HUME (1957), McCANN (1954), HARRIS (1954), TONUTTI (1957) s'accordent sur l'absence de blocage de la décharge d'ACTH après destruction du noyau supraoptique.

Les partisans du rôle de la vasopressine n'ont jamais démontré d'une façon objective que l'activité antidiurétique dont ils mesurent les variations dynamiques est vraiment due à la vasopressine. L'inactivation de la substance responsable de l'effet antidiurétique par le thioglycollate de Na (MIRSKY, STEIN et PAULISCH, 1955) n'est pas une preuve suffisante pour impliquer la vasopressine. D'autres substances actives contenant un pont -SH-SH- dans leur structure peuvent être inactivées par le sel de l'acide thioglycollique. Ce n'est pas là un test spécifique. D'ailleurs VAN DYKE (VAN DYKE, ADAMSONS et ENGEL, 1955) a violemment critiqué le type d'étalonnage utilisé par MIRSKY, STEIN et PAULISCH et sur la base des chiffres donnés par ces auteurs, il a mis en doute l'interprétation de leurs résultats, suggérant ainsi que l'activité antidiurétique du plasma pouvait ne pas être due à la vasopressine.

Sur la base des études *in vitro* qui ont conduit à l'isolement sous forme impure d'un facteur de décharge de l'ACTH (CRF) *in vitro* (GUILLEMIN, 1957; SAFFRAN, SCHALLY et BENFEY, 1956) il a été proposé que les deux substances, vasopressine et CRF pourraient avoir des propriétés communes dues à leur parenté de structure. Les deux substances ont indubitablement des comportements très proches dans divers systèmes de séparation et probablement des compositions qualitatives en acides aminés assez semblables. La confirmation de ces hypothèses ne sera possible que lorsque la substance hypophysiotrope aura été isolée à l'état pur et en quantités suffisantes pour qu'on en ait déterminé la composition et la structure.

L'existence dans les préparations commerciales de vasopressine d'un nombre considérable de peptides d'origine posthypophysaire ou diencephalique, entraînés avec le principe presseur, doit être considérée quand on attribue un rôle hypophysiotrope à la vasopressine sur la base de résultats obtenus avec ces extraits impurs. D'ailleurs, même certaines préparations hautement purifiées de vasopressine peuvent contenir des traces de petits peptides voisins que l'analyse chimique ne révélera pas. Si leur activité spécifique

hypophysiotrope est 10-15 fois supérieure à celle de la molécule de vasopressine, l'activité hypophysiotrope des solutions de vasopressine pourrait bien leur être due.

La question de la validité des critères utilisés pour prouver la décharge d'ACTH est un autre point à prendre en considération. Certains résultats publiés récemment suggèrent une dissociation entre les activités hypophysiotropes de la vasopressine et du CRF suivant qu'on mesure la décharge d'acide ascorbique surrénalien ou les corticoïdes périphériques ou de la veine surrénalienne. (McCANN, 1957; GUILLEMIN, CLAYTON et BELL, 1957; HUME, 1957.) Les importantes questions ainsi soulevées devraient être clarifiées quand les deux types d'activités corticotrophiques seront mesurés simultanément chez le même animal après injection de vasopressine et de CRF. Ces expériences n'ont jamais été faites à cause de leur difficulté technique. Nous espérons aborder cette question dans un avenir prochain avec une méthode simple de mesure de la *corticostérone* dans un petit volume de plasma (2 cc).

Ainsi le problème du médiateur de la décharge de l'hormone hypophysaire adrénocorticotrophique nous semble-t-il toujours aussi complexe. Le rôle proposé pour la vasopressine reste encore à être prouvé d'une façon objective et indubitable et avec des critères d'activité corticotrophique acceptables. C'est là, en fait, ce que l'on peut dire de toutes les substances proposées jusqu'à ce jour comme médiateur ultime de ce phénomène aussi commun qu'élusif, qu'est la décharge d'ACTH.

RÉFÉRENCES

Il n'est pas dans l'intention de l'auteur de rapporter ici une bibliographie complète de la question, mais plutôt de donner quelques références-clés en particulier de revues ou symposia récents.

HARRIS, G. W. 1955. *Neural control of the pituitary gland*. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London.

FIELDS, W. S., R. GUILLEMIN and C. CARTON. 1956. *Hypothalamic-hypophysial interrelationships*. C. C. Thomas Publisher, Springfield, U.S.A.

GUILLEMIN, R. 1955. *Endocrinology* 56: 248.

— 1957. *Brain Mechanisms and Drug Action*, W. S. Fields, Editeur, C. C. Thomas, Publ., p. 99.

- MIRSKY, I. A., M. STEIN et G. PAULISCH. Voir référence n° 2.
- SAFFRAN, M., A. V. SCHALLY and B. BENFEY. 1955. *Endocrinology* 57: 439.
- VAN DYKE, H. B., K. ADAMSONS and S. ENGEL. 1957. *The Neurohypophysis*. H. Heller, Editeur, Butterworths Scientific Publications, Londres, p. 65.
- GREEN, J. D. and C. VAN BREEMEN. 1955. *Am. J. Anat.* 97: 177.
- SCHARRER, E. and B. SCHARRER. 1954. *Rec. Prog. in Hormone Res.* 10: 183.
- HILD, W. In Ref. No. 2, p. 17.
- BARGMAN, W. In Ref. No. 7, p. 11.
- GAUNT, R., C. W. LLOYD and J. J. CHART. In Ref. No. 7, p. 233.
- McCANN, S. M. and J. BROBECK. 1954. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 87: 318.
- McCANN, S. M. 1957. *Endocrinology* 60: 664.
- PORTER, J. C. and H. W. RUMSFELD. 1956. *Endocrinology* 58: 389.
- SAYERS, E. G. 1956. *Fed. Proc.* 15: 162.
- MCDONALD, R. K. and V. K. WEISE. 1956. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 92: 487.
- 1956. 93: 348.
- DICKER, S. E. 1953. *J. Physiol.* 122: 149.
- PICKFORD, M. 1952. *Pharmacol. Rev.* 4: 260.
- VERNEY, E. B. 1947. *Proc. Roy. Soc. B.* 135: 25.
- WARD, D. N. and R. GUILLEMIN. 1957. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* (Sous presse.)
- LANDSMEER, 1951, JEWELL, 1956, in Référence n° 7, p. 183 et seq.
- VAN DYKE, H. B., K. ADAMSONS and S. ENGEL. 1955. *Rec. Prog. in Hormone Res.* 11: 1.
- HUME, D. 1957. *Proc. Ford Hosp. Symp. on Reticular Substance.* (Sous presse.)
- GUILLEMIN, R. 1957. *Endocrinology* 60: 488.
- G. CLAYTON and R. BELL. 1957. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* (Sous presse.)
-

Effect of extrahypophysial gonadotrophins on the mammary glands of hypo- physectomized rats injected with insulin¹

by

**B. BENGTSOHN, Monique ETIENNE, Dora JACOBSON
and A. NORGRÉN**

(From the Institute of Physiology, University of Lund, Sweden)

In animals with intact pituitary gland, growth and differentiation of the mammary gland is stimulated by actions of ovarian hormones. The growth response of the mammary glands is considerably reduced or absent when hypophysectomized animals are injected with ovarian steroids. This failure of the mammary gland to respond to the stimulating actions of ovarian hormones may be due to the lack of hypophysial hormones with specific actions on the mammary gland tissues, to alterations of the general metabolism following the ablation of the pituitary gland or to both. From the work of foremost LYONS and coworkers it is evident that the anterior hypophysial factors, prolactin and growth hormone, are involved in mammary gland growth. A direct action of prolactin on mammary gland tissues is indicated by experiments of e.g. LYONS, but so far little is known about the role played by the intermediary metabolism which is known to be influenced by prolactin and growth hormone. (Lit. see FOLLEY and MALPRESS, 1948; NELSON, 1952; JACOBSON, 1954; COWIE and FOLLEY, 1955; LYONS, JOHNSON, COLE and LI, 1955; AHRÉN and JACOBSON, 1956).

¹ Manuscrit reçu le 1^{er} juillet 1957.

As shown by SALTER and BEST, 1953, and LAWRENCE, SALTER and BEST, 1954, the general metabolism of hypophysectomized rats supplied *ad libitum* with a carbohydrate rich diet is altered by daily administration of long acting insulin. The authors mentioned found, amongst other things, that voluntary food intake of such rats was increased, and body weight and length as well as nitrogen retention increased. Thus, treatment of hypophysectomized rats with insulin promoted changes favouring the establishment of growth processes. The growth of mammary glands under conditions similar to those prevailing in the experiments of BEST and coworkers was studied recently and it was observed that castrated, hypophysectomized rats injected with oestrone, progesterone and long acting insulin presented growth and differentiation of the mammary glands (ÅHRÉN and JACOBSON, 1956). These observations showed that mammary gland growth can be promoted in the absence of hypophysial hormones. Apparently, the treatment with insulin had increased the responsiveness of the mammary gland to the stimulating actions of the ovarian steroids injected.

One of the questions arising from the work of ÅHRÉN and JACOBSON, 1956, is: how does the mammary gland, under similar conditions, react upon endogenously produced ovarian hormones? The study of this problem is met with difficulties arising i.a. from the fact that the functional activity of the corpora lutea is dependent upon the luteotrophic action of prolactin, which, as mentioned above, presumably exerts a direct stimulating action upon the mammary gland as well.

In the present experiments ovarian activity was stimulated with pregnant mare's serum gonadotrophin (PMS) or human chorionic gonadotrophin (HCG). Observations made on the mammary glands of hypophysectomized rats treated with insulin and/or these gonadotrophins will be reported in the present communication.

Experimental

A total of 60 young female rats bred at our Institute were used. Their diet given *ad libitum* consisted of bread, dog biscuits, mixed grain and fresh milk supplemented by glucose during the period of injections.

Four groups of completely hypophysectomized rats treated as follows were studied:

- Group I* (10 rats): Injections of PMS.
Group II (13 rats): Injections of PMS and long-acting insulin.
Group III (4 rats): Injections of HCG.
Group IV (9 rats): Injections of HCG and long-acting insulin.

In addition observations were made on the mammary glands of incompletely hypophysectomized rats and of rats with intact pituitary gland after treatments as in groups I to IV.

As far as possible littermates were distributed equally amongst the groups mentioned.

Hypophysectomy was performed when the rats were 31 to 33 days old (mean body weight $64 \pm 1,3$ (56) g), that is before their vaginal orifice had opened. Remnants of hypophysial tissue were always searched for at autopsy at $2.5 \times$ magnification and then by microscopic examination of serial sections through the hypophysial capsule and adjacent tissues embedded in paraffin wax, cut at 10μ and stained with hematoxylin eosin. Remnants indicated below as "microscopic" consisted of small groups of atypical or dedifferentiated anterior lobe cells in contact with the pars tuberalis surrounding the pituitary stalk or isolated by connective tissue. Such remnants were never detected with the $2.5 \times$ magnification at autopsy. The hypophysectomy was regarded as complete only when the microscopic examination did not reveal any remnant.

For the injections of insulin, zinc insulin lente (Novo) containing 40 i.u. per ml was used. The dose of insulin injected once daily (at about 12 o'clock) subcutaneously was gradually increased according to the following scheme: 1 i.u. during 2 days, 2 and 4 i.u. during 4 days each and 6 and 8 i.u. during 6 days each. In a few exceptions 4 i.u. were given during 6 days. For details concerning the insulin treatment see ÅHRÉN and JACOBSON, 1956.

The preparation of PMS was Gestyl (Organon) 1000 i.u. per ampoule. As a rule 100 i.u. (0,1 ml of 1000 i.u. in 1.0 ml saline) were injected subcutaneously every 3rd or 4th day.

The preparation of HCG, Pregnyl (Organon) 1500 i.u. per ampoule, dissolved in 1.0 or 2.0 ml saline was injected subcutaneously in doses of 75 to 200 i.u. once daily. Administration of 400 i.u. was effected by injections of 200 i.u. twice daily. The injections of HCG as well as of PMS were begun either a few days before or after the start of the insulin treatment. Care was taken to inject the two preparations into different sites under the skin of the rats. Details about doses, length of treatment with the two gonadotrophic preparations and start as related to insulin injections are given under "results". The treatment with the preparations mentioned was instituted at about two months after hypophysectomy.

The functional activity of the ovaries was judged from the condition of the vaginal membrane, from the appearance of vaginal smears and, at autopsy, from the size of the uterine horns. The ovaries were removed

at autopsy, weighed, embedded in paraffin wax, cut serially at 10 μ , stained with hematoxylin eosin and examined microscopically.

Mammary glands of all rats were examined shortly before the beginning of the injections and at the end of the experiment. Corresponding glands from one and the same rat (usually the second thoracic glands) were compared with each other after they had been stained with gallo-cyanin chromalum and mounted in toto. Parts of a few glands were embedded in paraffin wax for microscopic examination. Technical details about the preparation of the mammary glands as well as the criteria used for the judgement of mammary gland growth may be found in previous work (JACOBSON, 1948). Figures 1-11 illustrate typical results. In the tables growth is indicated as + or ++, absence of growth as 0.

The body weight of the rats was taken at hypophysectomy, at removal of the first mammary gland and at short intervals during the period of injections. The adrenal glands were removed post mortem and weighed.

RESULTS

Group I

Injections of PMS. This group comprises 18 rats, 10 of which had been completely hypophysectomized, in 4 others small remnants of anterior lobe cells were found at microscopic control, 2 had remnants detected at $2.5 \times$ magnification and in another 2 rats the pituitary gland was left intact.

The experiments performed on the completely hypophysectomized rats are summarized in Table 1.

TABLE 1

Completely hypophysectomized female rats injected with PMS

Exp.	Body wt. at:		Doses of PMS *	Ovaries after last inj.		Growth of m. gl.
	first inj. g	exam. g		days	mg	
1	65	60	20	4	8.9	0
2	105	105	100 \times 2	5	37.7	0
3	75	75	100 \times 3	3	36.7	0
4	105	100	20; 200	6	34.8	0
5	115	110	100 \times 3	2	34.5	0
6	100	105	100 \times 3	4	23.7	0
7	65	65	100 \times 3	4	13.6	0
8	65	75	100 \times 3	6	8.3	0
9	100	90	100 \times 6	3	76.2	0
10	95	85	100 \times 8	1	61.3	(+)

* Injections given every 3rd day in exp. 3, 9 and 10, otherwise every 4th day.

The body weight of these rats, operated on when immature, had generally increased slightly during the two months elapsing between hypophysectomy and start of injections. During the experiments lasting from 4 to 22 days the body weight remained unchanged. As may be seen from table 1, the doses of PMS were fairly high and the weight of both ovaries, reduced to about 4 mg in uninjected rats hypophysectomized at the age of one month, was considerably increased in all but experiments 1 and 8. The rat of exp. 1 had received the lowest dose and that of exp. 8 was examined 14 days after the first, that is 6 days after the last, injection. Microscopic examination of the ovaries of exp. 8 revealed a regression of the luteinization found in the ovaries of the other rats. The number of follicles with antrum appeared limited in the enlarged ovaries showing mainly luteinized follicles and a luteinized interstitium. Ovulation did not seem to have occurred. The vaginal orifice opened in all but exp. 1 between the 6th and 10th day after the first injection, and the vaginal smears as well as the appearance of the uteri indicated oestrus. The adrenal glands appeared as atrophic as in untreated hypophysectomized rats. Their mean weight was 6.4 ± 0.37 (10) mg.

In experiments 1-8 lasting up to 14 days the mammary glands examined post mortem presented roughly the same picture as the corresponding glands removed before the injection. Indications of growth and differentiation were not found (Fig. 1). The glands examined 18 and 22 days after the beginning of injections of a total of 600 and 800 i.u., respectively (expts 9 and 10) remained also undeveloped, but presented ducts with increased diameter (Fig. 3 and 4) due, as confirmed microscopically in exp. 10, to an accumulation of secretion within the ducts. Because of the distension of the ducts it is difficult to decide whether some growth had occurred, but in exp. 10 this seemed to be true.

In 2 of 4 rats with remnants of hypophyseal tissue revealed microscopically, the ovaries were somewhat more enlarged and the mammary glands showed slight growth of side buds and end buds. The remaining 2 rats reacted as the completely hypophysectomized animals of the present group. The 2 rats with large remnants and those with intact pituitary gland presented heavy ovaries (between 150 and 360 mg) with large follicles, bloodfollicles, corpora lutea and luteinized follicles and large interstitial cells.

The mammary glands were enlarged and the extensively developed alveoli could be clearly observed already at the dissection.

Group II

Injections of PMS and long-acting insulin. Of 23 rats subjected to this treatment 15 were completely hypophysectomized, 7 had microscopic remnants and in 1 rat the pituitary gland was left intact.

Data concerning experiments on 13 of the 15 completely hypophysectomized rats may be found in Table 2.

TABLE 2

Completely hypophysectomized female rats injected with PMS + insulin

Exp.	Body wt. at:		Period of insulin inj. *	Doses of PMS **	Ovaries after last inj.		Growth of m. gl.	
	first inj.	exam.			days	mg		
	g	g						
1	90	95	9	100	4	15.2	0	
2	60	85	10	20	4	15.4	0	
3	75	90	11	100 × 2	1	16.6	+	
4	80	90	14	100 × 3	2	30.3	++	
5	85	105	15	100 × 3	3	33.9	++	
6	75	110	16	20; 200	6	27.8	++	
7	85	105	16	100 × 3	2	35.8	++	
8	90	125	18	100 × 3	4	44.9	++	
9	90	115	18	20; 100; 200	2	40.3	++	
10	110	145	22	100 × 3	6	20.2	+	
11	75	—	4	100 × 5	1	16.4 ***	0	
12	90	95	7	100 × 6	1	57.8	+	
13	95	105	9	100 × 6	3	22.3	+	

* Injections of insulin begun 6 days *before* PMS in exp. 1-9, and at 8 days in exp. 10. In exp. 11-13 insulin treatment begun 9 days *after* the first injection of PMS.

** Injections given every 3rd day in expt 1, 4, 5, 11, 12, 13, otherwise every 4th day. Interval between 2nd and 3rd inj. in exp. 9, 6 days.

*** One ovary only.

Two of the 15 rats mentioned died shortly after the first injection of PMS, that is at the 8th day of insulin treatment. The body weight of all the 15 rats mentioned increased markedly during the period of injections. As indicated in the Table 2 the treatment with PMS was instituted either after or before the beginning of the insulin injections. The ovaries presented roughly the same

changes as those of the experiments given in Table 1 although follicular growth appeared, perhaps, more accentuated. Oestrus was indicated by breakdown of the vaginal membrane, by cornified cells in the vaginal smears and an enlargement of the uterine horns. These reactions were obtained in expts 4 to 13. In expts 2 and 3 the vaginal orifice remained closed. The rat of exp. 1 hypophysectomized at the age of 47 days (the only rat operated on later than at 33 days of age) had an open vagina before the experiment, but the vaginal smears indicated anoestrus. The mean weight of 8 ± 2.3 (13) mg indicates an atrophy of the adrenal glands.

Contrary to the findings in group I injected with PMS alone the mammary glands of the rats of expts 4 to 10 (Table 2) presented a distinct proliferation of side buds and end buds (Fig. 2). The diameter of the ducts often appeared enlarged. In these experiments the dose of insulin was 4 i.u. at the first injection of PMS and 6 and 8 i.u. daily at the end of expts 4, 5 and 6 to 10, respectively. Growth of the mammary glands was absent in the rats that had received only one injection of PMS (exp. 1 and 2) and in the rat (exp. 11) injected with insulin 1 and 2 i.u. during 2 days each. The rat (exp. 3) that died on the 5th day after the first injection of PMS presented slight growth of the mammary gland. Limited growth was observed in expts 12 and 13. Here the few side buds appeared elongated and thickened (Fig. 5 and 6). Since the insulin treatment was begun 9 days after PMS (expts 12 and 13) the dose of insulin had not been increased to more than 4 i.u. when the experiment was concluded.

In the 7 rats with microscopic remnants the reaction of the mammary glands was the same (2 rats) or slightly more extensive (5 rats) than in the completely hypophysectomized rats just mentioned. The ovaries and the mammary glands of the rat with intact pituitary gland presented the same hypertrophy as that found in group I in the rats with intact pituitary gland.

Group III

Injections of HCG were given to 9 rats, 4 of which had been completely hypophysectomized, in 4 others a small remnant of anterior lobe cells was found microscopically and in 1 rat a larger remnant had been left.

TABLE 3

Completely hypophysectomized female rats injected with HCG

Exp.	Body wt. at:		Doses of HCG *	Wt. of both ovaries mg	Wt. of both adrenals mg	Growth of m. gl.
	first inj. g	exam. g				
1	115	120	400 × 2 200 × 3	25.1	9.2	0
2	75	65	150 × 8	17.1	5.7	0
3	80	85	150 × 11	24.9	7.7	0
4	100	105	75 × 16	8.6	5.6	0

* Autopsy after last injection: exp. 1 at 4 days; exp. 2-4 at one day.

As may be seen from Table 3, summarizing experiments after complete hypophysectomy, the total amount of HCG administered was high. Except in exp. 4 the ovarian weight was markedly increased whilst the adrenal glands remained atrophic. The body weight was stable during the period of injections of 8 to 16 days. Microscopically the ovaries contained very few small follicles with granulosa cells, the dominating feature being a luteinization. Opening of the vagina and oestrus were found in experiments 3 and 4 after 8 and 10 days, respectively. Oestrus did not occur in expts 1 and 2, and changed towards metoestrus at the end of exp. 4. The mammary glands did not show growth of normal structures, but in expts 3 and 4 the ducts appeared slightly widened and the side buds seemed elongated (Fig. 7).

The mammary glands of the 4 rats with microscopic remnants showed no changes (1 rat) or slight augmentation of side buds and occasional end buds (3 rats). The reaction of the ovaries of these 4 rats was very similar to that observed in the experiments of Table 3. The one rat showing a macroscopic hypophysial remnant had larger ovaries (64.3 mg) with many follicles of different size, larger corpora lutea, luteinized follicles and enlarged interstitial cells. The mammary glands covering a greater area and showing end buds before the injections (Fig. 11) developed a number of alveoli in the central parts and a few side buds and many end buds in the periphery.

Group IV

Injections of HCG and long-acting insulin. 10 hypophysectomized rats, one of which had a macroscopic remnant, were injected with HCG in doses and during periods corresponding to those of group III. The experiments on the 9 completely hypophysectomized rats are summarized in Table 4.

TABLE 4

Completely hypophysectomized female rats injected with HCG + insulin

Exp.	Body wt. at:		Period of insulin inj. *	Doses of HCG**	Wt. of both ovaries	Growth of
	first inj. g	exam. g				
1	80	120	21	400 × 2 200 × 4	11.5	+
2	100	130	21	do	11.3	+
3	110	120	16	do	23.0	+
4	95	105	13	150 × 7	22.6	+
5	90	110	17	150 × 11	20.1	+
6	90	110	11	75 × 16	24.7	++
7	95	110	12	75 × 17	15.1	+
8	80	95	12	75 × 17	13.6	+
9	80	105	12	75 × 17	16.8	+

* Exp. 1-3 and 4, 5 injections of insulin begun 8 and 6 days, respectively, *before* HCG. Exp. 6-9 injections of insulin begun 5 days *later* than HCG.

** Autopsy after the last injection: exp. 1, 2 at 8 days, exp. 3 at 3 days, exp. 4-9 at 1 day.

The period of insulin injections varied between 11 and 21 days. Thus, the daily doses of insulin had, at the end of the experiments, reached a level of 6 or 8 i.u. The body weight of all the 9 rats increased markedly during the period of treatment. The adrenal glands remained atrophic (mean weight 7.8 ± 0.36 (9)mg), but the ovaries had increased in weight and presented the same luteinization as those of group III. In all but expts 3 and 4 the vagina opened and the uterus appeared enlarged. In exp. 6 the opening occurred at 5 days after the first injection of HCG, in the remaining ones at 11 or 12 days. Oestrus was found in exp. 5, but expts 7 and 9 showed metoestrus and dioestrus.

The mammary glands removed after the injections showed an increase of the number of side buds, and in 5 rats end buds appeared. In expts 8 and 9 the diameter of the ducts seemed

enlarged (Fig. 8, 9, 10). The rat with a microscopic remnant of pituitary gland cells was treated as exp. 9, but during 21 days. The luteinization of the ovaries showed a beginning regress, but otherwise the result of the injections was the same as in the completely hypophysectomized rats of the present group. The weight of both adrenals was 8.2 mg.

DISCUSSION

The main result obtained in the present work was a stimulation of duct growth in the mammary glands of hypophysectomized rats injected with insulin in addition to PMS or HCG (group II and IV). The effect was dependent upon the dose of insulin. Daily injections of 6 to 8 i.u. seemed to be necessary. In view of the observations made by ÅHRÉN and JACOBSON, 1956, on castrated hypophysectomized rats injected with insulin, oestrone and progesterone, it seems tempting to assume that the stimulating effect of the gonadotrophin preparations was mediated by the ovaries. The absence of a development of alveoli would then have to be explained by a lack of progesterone secretion due to a failure of the gonadotrophins to exert a luteotrophic action on the ovaries. Supporting this assumption are reports of other investigators who failed, as confirmed in the present material, to produce ovulation and development of corpora lutea by injection of PMS or HCG into immature rats hypophysectomized a long time before the start of injections (LEONARD and SMITH, 1934; ROWLANDS and WILLIAMS, 1941; WILLIAMS, 1945; MORICARD, 1953). Additional evidence for a lack of a luteotrophic activity of PMS and HCG preparations was obtained by NELSON, 1952, studying the reaction of the mammary glands in hypophysectomized rats. Progesterone secretion and a progressive development of the mammary glands were observed by this investigator only when prolactin was given in addition to PMS and HCG. As mentioned in the introduction prolactin exerts a luteotrophic as well as a mammatrophic action in the rat. Since the extent of growth observed in the present experiments is apparently less than that described by e. g. LYONS, 1951, using prolactin in addition to FSH and ICSH, insulin does not seem to be able to replace the actions of prolactin. Further work is necessary to clarify this point, however.

In the hypophysectomized rats injected with PMS or HCG but not with insulin (groups I, and III) mammary gland growth was not obtained in spite of the fact that a stimulation of oestrogen secretion was indicated by the reactions of the vagina and uterus. This finding is in agreement with investigations showing that oestrogens do not promote mammary gland growth in the absence of anterior pituitary hormones and an exogenous supply of insulin (for lit. see introduction). After prolonged treatment an elongation of side buds and an increase of the diameter of the ducts were occasionally noticed. These changes might be due to a direct effect of the gonadotrophin preparation on the mammary gland tissues or to an effect promoted by androgenic agents, shown by PONSE, 1954, to be produced in the ovaries of hypophysectomized rats injected with PMS or HCG.

The mammary glands of rats with microscopic remnants of anterior hypophysial tissues showed either the same changes as the corresponding completely hypophysectomized rats or a slight stimulation of growth. The adrenal glands of these rats were atrophic. The variations occurring in the results obtained from such rats emphasize the need of careful microscopic examination of the operation field.

The response of the reproductive organs of rats with larger remnants were similar to those described by others and confirmed in the present experiments on rats with intact pituitary gland. Some of the questions indicated above are objects of further investigations in this laboratory.

SUMMARY

The reaction of the mammary gland to high doses of PMS or HCG administered together with long-acting insulin was studied in female rats hypophysectomized before puberty and receiving the first injection after an interval of about two months.

Growth of ducts was obtained when insulin in doses of 6 to 8 i.u. per day was given together with PMS or HCG.

PMS or HCG given alone stimulated the ovaries to secrete oestrogens, but the mammary glands remained undeveloped. After prolonged treatment an abnormal elongation of side buds and a slight increase of the diameter of ducts was occasionally observed.

The generous gifts of zinc insulin lente by Doctor Hallas-Møller, Novo Terapeutisk Laboratorium, Copenhagen, Denmark, and Gestyl and Pregnyl, Organon, by the Pharmacia Ltd., Upsala, are gratefully acknowledged. Our thanks are due to Mrs. Ulla-Britta Sundén for skilful technical assistance and to Mr. A. Persson for the care of the animals. The present work was supported by a grant to D. J. from the Rockefeller Foundation.

REFERENCES

- AHRÉN, K. and Dora JACOBSON. 1956. *Acta physiol. scand.* 37: 190.
 COWIE, A. T. and FOTLEY, S. J. 1955. In G. Pincus and K. V. Thimann, *The Hormones*, New York, Vol. III, p. 309.
 FOLLEY, S. J. and MALPRESS, F. H. 1948. In G. Pincus and K. V. Thimann, *The Hormones*, New York, Vol. I, p. 695.
 JACOBSON, Dora. 1948. *Acta physiol. scand.* 17, Suppl. 57.
 — 1954. *Ibidem*, 32: 304.
 LAWRENCE, R. T. B., J. M. SALTER and C. H. BEST. 1954. *Brit. med. J.* 2: 437.
 LEONARD, S. L. and Ph. E. SMITH. 1934. *Anat. Rec.* 58: 175.
 LYONS, W. R. 1951. *Colloq. int. du CNRS*, 32: 29.
 — R. E. JOHNSON, R. D. COLE and C. H. LI. 1955. *The Hypophyseal Growth Hormone*, New York, p. 461.
 MORICARD, R. 1953. *Ciba Colloq. Endocrinol.*, London, 5: 33.
 NELSON, W. O. 1952. *Ciba Colloq. Endocrinol.*, London, 4: 402.
 PONSE, Kitty. 1954. *Bull. Acad. suisse sci. méd.* 10: 1.
 ROWLANDS, I. W. and P. C. WILLIAMS. 1941. *J. Endocrinol.* 2: 380.
 SALTER, J. and C. H. BEST. 1953. *Brit. med. J.* 2: 353.
 WILLIAMS, P. C. 1945. *J. Endocrinol.* 4: 127.
-

COMMENTS TO PLATES I AND II

The figures show photographs of whole mount preparations of thoracic mammary glands stained with galloxyanin chromalum. The magnification is the same in all figures, x 8.5. The experimental procedures performed on the animal from which the gland was obtained are indicated below. Except for Fig. 11 all figures illustrate experiments on completely hypophysectomized rats.

PLATE I

- Fig. 1.* Group I (Table 1, exp. 6). Injections of PMS, 100 i.u. \times 3. In spite of vaginal oestrus the mammary gland examined at 12 days after first injection did not show any growth of ducts.
- Fig. 2.* Group II (Table 2, exp. 7). Injections of PMS, 100 i.u. \times 3, and insulin up to 6 i.u. daily. Marked growth of ducts and side buds and increased diameter of ducts after treatment with insulin during 16 days, that is at 10 days after first injection of PMS.
- Fig. 3.* Group I (Table 1, exp. 9). Control gland removed 54 days after hypophysectomy (hyp. ect.). Atrophic gland with thin ducts.
- Fig. 4.* Group I, same rat as Fig. 3. Injections of PMS, 100 i.u. \times 6. In spite of vaginal oestrus no growth of ducts at 18 days after first injection. The diameter of the ducts has increased, however.
- Fig. 5.* Group II (Table 2, exp. 12). Control gland removed 54 days after hyp. ect. Atrophic gland.
- Fig. 6.* Group II, same rat as Fig. 5. Injections of PMS, 100 i.u. \times 6, and insulin up to 4 i.u. The gland was removed at 16 days after first injection of PMS, but insulin treatment was given during the last 6 days only. The number of side buds does not appear increased, but the diameter of ducts and side buds is larger than in the control gland.

Note that this gland is similar to that of Fig. 4. The amount of insulin was apparently insufficient.

PLATE II

- Fig. 7.* Group III (Table 3, exp. 4). Injections of HCG, 75 i.u. \times 16. In spite of vaginal oestrus the number of side buds was not increased at 16 days after first injection. The side buds appear elongated and the diameter of ducts and side buds is slightly increased.
- Fig. 8.* Group IV (Table 4, exp. 9). Injections of HCG, 75 i.u. \times 17, and insulin up to 6 i.u. daily. The gland removed after 12 days of treatment with insulin shows growth and thickening of ducts and side buds.
- Fig. 9.* Group IV (Table 4, exp. 1). Control gland removed 57 days after hyp. ect. Atrophy.
- Fig. 10.* Group IV, same rat as Fig. 9. Injections of HCG, 400 i.u. \times 2 and 200 i.u. \times 4, and insulin up to 8 i.u. daily. Marked growth of ducts and side buds and increased diameter of ducts.

A few end buds present. The treatment of insulin had been given during 21 days.

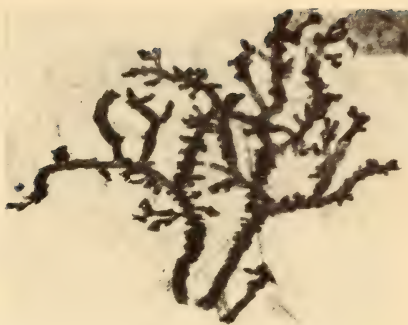
Fig. 11. Group III. Part of a control gland removed 59 days after an incomplete hypophysectomy. The vagina opened after the operation and the body weight of the rat, showing a macroscopic remnant of hypophysial tissue, had increased from 75 g to 150 g. Note the large area and the end buds of this gland showing otherwise thinned ducts only.

After injections of HCG, 75 i.u. \times 16, alveoli appeared in the central parts of the gland and side buds and many end buds were seen in the peripheral parts.

PLANCHE I



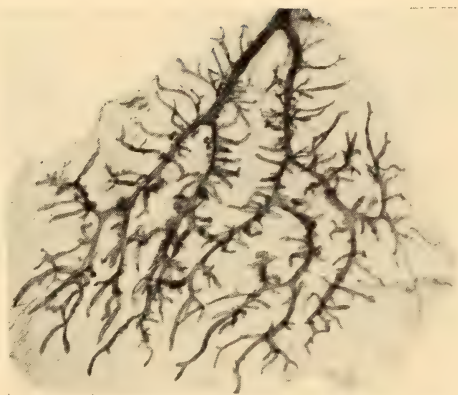
1



2



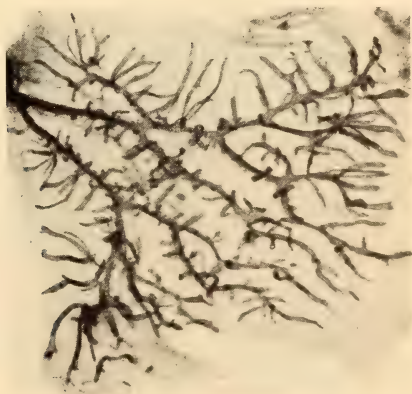
3



4

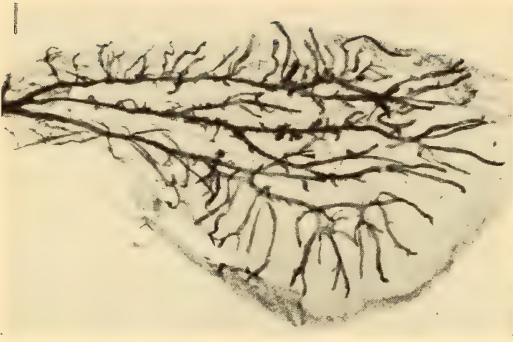


5

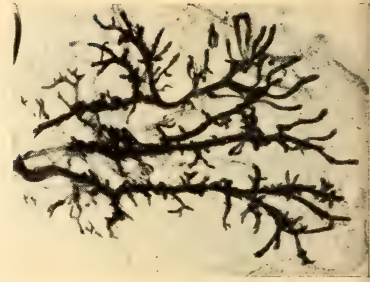


6

PLANCHE II



7



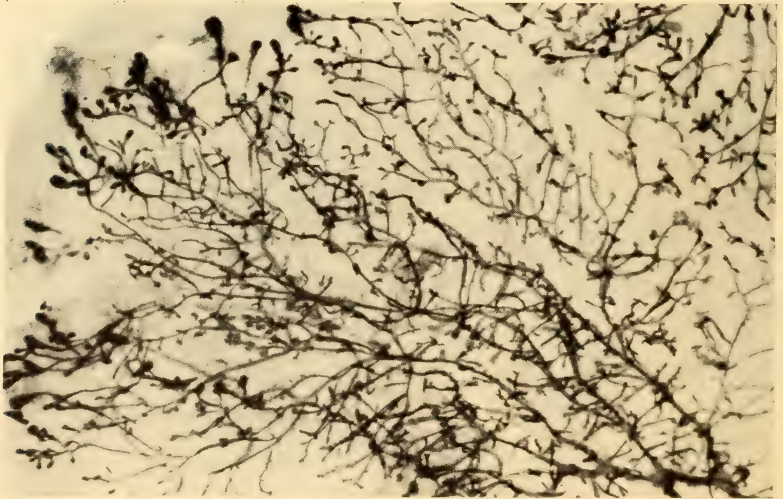
8



9



10



11

Pouvoir œstrogène et activité lutéotrophique de différents produits de synthèse

par

M. F. JAYLE, Ph. GENET, L. PUJOL, S. VANDEL

(Laboratoire de Biochimie de la Faculté de Médecine Paris)

C'est un fait actuellement bien connu que les substances œstrogènes, hormones naturelles ou produits de synthèse, exercent une action sur le fonctionnement ovarien, par un mécanisme variable selon les espèces animales.

Historique. — HOHLWEG (1934-1936) a provoqué l'apparition de corps jaunes dans les ovaires de la ratte impubère par administration d'hormone folliculaire. DESCLIN (1935), SELYE, COLLIP et THOMSON (1935) et WOLFE (1935) ont confirmé ce résultat; MERCKEL et NELSON (1940) le contestent. HOHLWEG et CHAMORRO (1937) ont établi que cette action lutéinisante des œstrogènes s'effectue par voie hypophysaire. EVERETT (1948) a constaté l'apparition de nouveaux corps jaunes dans les ovaires de la ratte gestante, après administration d'œstrogènes au début de la gestation.

L'activité lutéotrophique des œstrogènes se manifeste en transformant les corps jaunes cycliques de la ratte en corps jaunes de pseudo-gestation, en prolongeant la durée des corps jaunes gestatifs et en rendant fonctionnels les corps jaunes de lactation.

Différents travaux mettant en évidence cette activité lutéotrophique des substances œstrogènes chez la ratte adulte normale sont rassemblés dans le tableau I. Le plus souvent, ces substances œstrogènes ont été administrées quotidiennement, par voie sous-cutanée, en solution huileuse. Toutefois DESCLIN (1949 *ab*, 1950) et LINDER, SATKE et VOELKEL (1951) ont administré le Diéthyl-

stilboestrol et l'Hexoestrol sous forme d'implants (les chiffres donnés dans le tableau correspondent à la quantité de produit implantée suivie du taux de résorption quotidienne); enfin, MERCKEL et NELSON (1940) et ALLOITEAU (1957) ont administré une dose unique au moment de l'œstrus. DONAHUE (1938) et NELSON (1935) ont noté l'existence de doses liminaires, auxquelles l'effet lutéotrophique est faible ou inconstant.

ASTWOOD (1941) déclenche la puberté chez de jeunes rattes (4 injections quotidiennes de 2 U.I. de gonadotrophines chorioniques) et maintient ensuite des corps jaunes fonctionnels chez ces animaux avec deux injections par semaines de dipropionate d'œstradiol.

Chez la ratte gestante, SELYE et coll. (1935) ont prolongé, au-delà de la période normale de gravidité, des corps jaunes fonctionnels, par administration quotidienne de 500 µg. d'œstrone; ils ont noté la mort des fœtus *in utero*. KLEIN et MAYER (1942-1943) ont confirmé ce résultat avec des doses de 125 U.I. de benzoate d'œstradiol; avec les mêmes doses ils ont maintenu en activité des corps jaunes pendant 12 à 20 jours après hystérectomie chez des femelles gravides.

Au cours de la lactation, SELYE et coll. (1935) ont, toujours par administration d'œstrogènes, obtenu des corps jaunes de grande taille et une mucification de l'épithélium vaginal tels qu'on les rencontre pendant la gestation.

Cette activité lutéotrophique ne se manifeste plus chez les rattes hypophysectomisées, que l'ablation de l'hypophyse soit effectuée avant ou pendant l'administration des œstrogènes; l'état de dioestrus fait alors place à un état de kératinisation vaginal. PENCHARZ (1940) a cependant provoqué la formation de follicules hémorragiques et de corps jaunes ainsi qu'une forte augmentation du poids de l'ovaire chez la ratte hypophysectomisée par administration d'une substance œstrogène et de gonadotrophine chorionique; DESCLIN (1949) a constaté l'existence d'une synergie entre la prolactine et les œstrogènes sur le maintien en activité des corps jaunes chez la ratte hypophysectomisée, mettant également en évidence une action faible et partielle, mais directe, des substances œstrogènes sur le corps jaune.

Enfin EVERETT (1956) a transplanté, au moment de l'œstrus, l'hypophyse de rattes sous la capsule rénale; il a constaté que les

corps jaunes cycliques restaient plusieurs semaines sans manifester de signes de régression, tandis que le tractus génital, en particulier le vagin, devenait atrophique. De 20 à 120 jours après la transplantation hypophysaire, il administre 125 µg. de benzoate d'œstradiol (3 injections en une semaine) et constate l'apparition d'une mucification vaginale tandis que les corps jaunes ont pris un aspect gestatif; l'ablation du greffon hypophysaire entraîne l'apparition rapide de l'œstrus vaginal.

TABLEAU I

Auteurs	Oestrogène utilisé	Dose
NELSON, 1935	oestrone	20 U.R. 40 U.R.
SELYE et coll., 1935	oestrone	50 µg.
WOLFE, 1935	extrait oestrogène	200 U.R.
DESCLIN, 1935	b. œstradiol	100 U.R.
MERCKEL, 1940	oestrone	40 U.R. 400 U.R.
DONAHUE, 1938	« hormone oestrogène »	50 U.R. 500 U.R.
DESCLIN, 1949	Diéthylstilboestrol	20 mg. (30 µg.)
BOURG-SIMON, 1950	b. œstradiol	250 µg.
BOURG-van MEENSEL, 1951	b. œstradiol	5 mg.
LINDNER, 1951	hexoestrol	5 mg. (38 µg.) 24 mg. (71 µg.)

Cette action lutéotrophique des substances œstrogènes se manifeste également chez la lapine. WESTMANN et JACOBSON (1937) ont ainsi prolongé l'activité des corps jaunes de pseudo-gestation. HECKEL et ALLEN (1936), KLEIN (1939) ont prolongé la durée des corps jaunes de gestation au-delà de la durée normale de gravidité, constatant toutefois la mortalité fœtale *in utero*. Enfin, KLEIN (1939 *b*), a maintenu des corps jaunes en activité après ablation de la corne utérine gravide.

ROBSON (1938) et WESTMANN (1940) ont établi que, chez la lapine, les œstrogènes exercent directement leur activité lutéotrophique sur l'ovaire et que le relai hypophysaire n'est pas nécessaire.

Objet du travail. — Dans ce travail, nous avons poursuivi deux objectifs: nous avons d'abord cherché une méthode permettant d'apprécier quantitativement l'activité lutéotrophique des œstrogènes; puis, nous avons comparé les propriétés œstrogènes et les propriétés lutéotrophiques de différentes substances, afin de préciser leur corrélation ou leur indépendance relative.

Méthode et technique. — Pour évaluer cette activité lutéotrophique, nous avons cherché à déterminer la dose liminaire quotidienne qui permet d'obtenir une mucification de l'épithélium vaginal de la ratte adulte normale. LONG et EVANS (1922) ont en effet montré que la gestation chez la ratte s'accompagne de modifications du récepteur vaginal: suspension du cycle œstral et mucification de l'épithélium; ils ont retrouvé ces effets vaginaux au cours de pseudo-gestations provoquées par coït avec un mâle stérile ou par excitation mécanique du cervix. Cette mucification vaginale, due à la présence de corps jaunes fonctionnels, a pu être reproduite chez la ratte castrée adulte par injection de substances œstrogènes et de progestérone dans des proportions déterminées (COURRIER).

Nous avons recherché cette mucification au 13^e jour d'administration des substances œstrogènes: ce délai correspond en effet à la durée normale de la pseudo-gestation chez la ratte; de plus, c'est alors que les modifications vaginales sont les plus nettes; enfin, la pseudo-gestation déterminée par les œstrogènes durant — selon les auteurs — de 16 à 20 jours, nous avons utilisé ce test au moment où l'activité du corps jaune était susceptible d'être le plus fidèlement reflétée par l'épithélium vaginal.

Nous avons utilisé des rattes adultes vierges pesant 125 g. environ; la régularité de leur cycle a été vérifiée au préalable. Les substances étudiées ont été administrées en solution huileuse: injections quotidiennes sous-cutanées sous un volume de 1/10 de cc. Les animaux ont reçu 12 injections et ont été sacrifiés le 13^e jour. Chaque jour a été effectué un prélèvement vaginal qui, après coloration de Giemsa, a permis de suivre les essais. Lors de l'autopsie, la résorption des injections huileuses a été vérifiée. Les organes suivants ont été prélevés, pesés et fixés: ovaires, utérus, vagin

(non pesé), surrénales, thyroïdes (non pesées) et hypophyse. Fixateurs utilisés: Bouin-Hollande, formol à 10% et Zenker-formol (hypophyse). Inclusion dans la paraffine et coupes à 5 μ . Coloration trichrome: hématoxyline de Weigert, fuchsine-ponceau, bleu d'aniline; hémalun acide de Mayer, jaune de méthanil et mucicarmine de Mayer pour les coupes du vagin.

TABLEAU II

Nature de la substance utilisée	Dose en μ g.	Nombre animaux	Nombre de cas mucification vaginale observés (1)
Paraacétoxyphényl-isobutène	500	5	0
	1000	5	
	5000	5	
Paraoxypropiophénone	500	5	0
	1000	5	
Diéthylstilboestrol	1-5	5 \times 3	0
	10	5	0
	20	5	2 (1)
	30	5	5
	50	5	5
	50	5	5
Monobenzyléther de Diéthylstilboestrol	10-50	5 \times 3	0
	100	5	0
	200	5	1 (2)
	500	5	5
	1000	5	5
Diénoestrol	2½	5	0
	5	5	1
	10	5	5
	20	5	5
	50-100	5 \times 3	5
Monobenzyléther de diénoestrol	10-50	5 \times 3	0
	100	5	0
	200	5	0
	300	5	1 (1)
	500	5	5
	1000	5	5

I: entre parenthèses = mucifications faibles ou partielles.

La mesure du pouvoir œstrogène a été effectué par le test d'ALLEN et DOISY (1923) qui fait appel au même récepteur vaginal utilisé pour l'évaluation de l'activité lutéotrophique. Nous avons

utilisé des rattes jeunes, castrées à l'âge adulte, de sensibilité connue vis-à-vis de l'œstrus. Les substances étudiées ont été administrées en solution huileuse, sous un volume de 0,20 cc, par injection sous-cutanée unique. Nous avons considéré comme seuil d'activité œstrogène la dose qui, dans ces conditions, faisait apparaître la kératinisation totale des éléments desquamés prélevés dans la lumière vaginale dans les 72 heures suivant l'injection.

Résultats. — Nous avons recherché le seuil de l'activité lutéotrophique de six produits de synthèse :

Paraoxypropiophénone, paraacétoxyphénylisobutène, diéthylstilbœstrol, monoéther-oxyde benzylique de diéthylstilbœstrol, diœstrol, monoéther-oxyde benzylique de diœstrol.

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau II.

Les animaux ayant reçu la Paraoxypropiophénone et le Paraacétoxyphénylisobutène n'ont pas été sacrifiés : les frottis vaginaux n'avaient montré aucune modification du cycle œstral.

Pour les autres substances, les chiffres indiqués () dans le tableau II concernant les animaux ayant présenté une faible mucification, localisée aux culs-de-sac des replis de la lumière vaginale : il est vraisemblable que dans ces cas, il y a eu une action lutéale faible ou de courte durée. Dans tous les autres cas, la réaction était franche : épithélium stratifié à 6 ou 7 assises cellulaires : les 4 ou 5 assises superficielles sont constituées de cellules envahies par de volumineuses vacuoles mucicarminophiles, refoulant à la périphérie un noyau hyperchromatique.

Chez ces animaux, les ovaires contenaient de volumineux corps jaunes, morphologiquement au même stade, d'aspect fonctionnel ; le tissu interstitiel apparaissait réduit, les follicules de petite taille, peu ou pas cavitaires.

Après une courte phase d'œstrus, les frottis vaginaux s'étaient maintenus en dioœstrus jusqu'à la fin des essais.

Quant aux autres animaux, leurs vagins et leurs ovaires présentaient les aspects rencontrés aux différents stades du cycle œstral.

L'examen histologique des autres organes prélevés est actuellement en cours.

Les activités œstrogènes de ces diverses substances sont rapportées dans le tableau III.

TABLEAU III

Nature de la substance utilisée	Seuil de l'activité œstrogène
Paraacétoxyphénylisobutène	50 mg.
Paraoxypropionophénone	50 mg.
Diéthylstilboestrol	0,5
Monoether-oxyde benzylique de diéthylstilboestrol	150-200 µg.
Diœnoestrol	0,6
Monoether-oxyde benzylique de diœnoestrol	150-200 µg.

Discussion. — Il ressort tout d'abord que les deux produits, Paraoxypropionophénone et Paraacétoxyphénylisobutène, qui sont dépourvus d'activité œstrogène, ne possèdent pas non plus d'activité lutéotrophique.

Dans le tableau IV sont rassemblées les doses liminaires œstrogènes et lutéotrophiques.

TABLEAU IV

Nature de la substance	Seuil activité œstrogène (1)	Seuil activité lutéotrophique(1)	Nb. unités œstrogènes nécessaires pour obtenir effet lutéotrophique
Diéthylstilboestrol	0,5	20-30	40-60
Monobenzyléther de diéthylstilboestrol	150-200	200-500	1-3
Diœnoestrol	0,6	5-10	8-16
Monobenzyléther de diœnoestrol	150-200	300-500	1½-3

(1) en µg.

Le Diéthylstilboestrol et le Diœnoestrol ont une activité œstrogène sensiblement équivalente, mais l'activité lutéotrophique du second est double de celle du premier.

La monobenzylation de ces deux produits diminue considérablement leur pouvoir œstrogène, le ramenant à 1/300 environ; quant à l'activité lutéotrophique, elle est aussi diminuée dans des proportions plus élevées pour le monobenzyléther dérivé du Dièncœstrol que pour celui du Diéthylstilbœstrol.

Mais le fait le plus intéressant mis en évidence est que le rapport pouvoir œstrogène / pouvoir lutéotrophique des produits monobenzylés est considérablement augmenté par comparaison à celui des produits de base: alors qu'il fallait de 10 à 50 unités œstrogènes de ceux-ci pour obtenir un effet lutéotrophique, il suffit de 1 à 3 unités œstrogènes de ceux-là pour obtenir le même résultat.

Conclusion. — Il ressort de ce travail que:

- 1° Les produits étudiés qui ne présentent pas d'activité œstrogène ne présentent pas non plus d'activité lutéotrophique.
- 2° Il n'existe pas de relation fixe entre le pouvoir œstrogène et l'activité lutéotrophique des différentes substances étudiées.
- 3° La monobenzylation permet de dissocier ces deux activités biologiques et d'augmenter l'activité lutéotrophique par rapport au pouvoir œstrogène.

Résumé. — Dans ce travail, nous avons présenté une méthode permettant d'apprécier quantitativement l'activité lutéotrophique des œstrogènes.

Les substances étudiées n'ayant pas d'activité œstrogène n'ont pas d'activité lutéotrophique. L'activité lutéotrophique, rapportée à l'unité de l'activité œstrogène, est variable d'une substance à l'autre. La monobenzylation du Dièncœstrol et celle du Diéthylstilbœstrol augmentent relativement l'activité lutéotrophique.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN and DOISY. 1923 J.A.M.A. 81: 819.
ALLOITEAU. 1957. C. R. Soc. Biol. (sous presse).
BOURG and SIMON. 1950. Proceedings of the royal Society of Medecine London 43: 719.
— et VAN MEENSEL. 1951. Annales d'Endocr. n° 6: 12.
COURRIER. 1949. Endocrinologie de la gestation. Masson.
DESCLIN. 1935. C. R. Soc. Biol. 120: 526; 1948, 141: 1436; 1949, 143, 1004 et 1154.
— 1950. Annales d'Endocr. 11: 656.

- DONAHUE. 1938. *Endocrinology* 23: 521.
- EVERETT. 1948. *Endocrinology* 41: 421; 1956, 58: 786.
- FEVOLD, HISAW and GREEP. 1934. *Amer. J. of Physiol.* 109: 655: 1935/36, 114: 508.
- HECKEL and ALLEN. 1938. *Endocrinology* 23: 171; 1939, 24: 137.
- and ALLEN. 1938. *Amer. J. of physiol.* 122: 195.
- and ALLEN. 1936. *Science* 84: 161; 1938, 87: 302.
- HOHLWEG und CHAMORRO. 1937. *Klin. Wochschr.* 16: 196.
- KLEIN. 1939. *C. R. Soc. Biol.* 130: 929 et 933.
- et MAYER. 1942/43. *Archives de physique biologique* 16: 40 et 42.
- et MAYER. 1948. *Journal de physiologie* 40: 227.
- LINDNER, SATKE et VOELKEL. 1951. *Arch. Inter. de Pharmacodynamic* 46: 421.
- MAYER. 1951/52. *Arch. des Scien. Physiol.* 5-6.
- 1948. *Gyn. et Obst.* 47: 668.
- MERCKEL and NELSON. 1940. *Anat. Rec.* 76: 391.
- NELSON. 1935. *Anat. Rec.* 64: suppl. 52.
- 1946. *Endocrinology* 39.
- and PLICHETTE. 1942. *Anat. Rec.* 84: 449; 1943, 87: 459.
- PENCHARZ. 1940. *Science* 91: 554.
- ROBSON. 1938. *Quarterly J. of Expetl. Biol.* 28: 49.
- SELYE, COLLIP et THOMSON. 1934/35. *Proc. Soc. Expetl. Biol. et Med.* N. Y. 32: 1377.
- WESTMAN. 1940. *Endocrinology* 26: 774.
- et JACOBSON. 1937. *Acta Obstetr. et Gynecol. Scandinav.* 17: 1.
- WOLFE. 1935. *Proc. Soc. Expetl. Biol. et Med.* N. Y. 32: 757; 1936, 34: 26.
-

Cytologie comparée et Taxonomie des Chamaeleontidae (Reptilia-Lacertilia)¹

par

Robert MATTHEY

(Avec 30 figures dans le texte.)

*A Kitty Ponse, en témoignage
d'admiration et d'ancienne amitié.*

SOMMAIRE

	Pages
<i>Introduction</i>	710
<i>Technique</i>	711
<i>La formule chromosomique chez 20 espèces de Chamaeleontidae (Genres Chamaeleon, Brookesia, Rhampholeon)</i>	711
<i>Discussion générale</i>	717
A. Cytologie comparée des Caméléons	717
B. Formules chromosomiques, distribution géographique et paléontologie	725
C. Classification et cytologie comparée	729
<i>Conclusions</i>	730
<i>Auteurs cités</i>	731

¹ Les recherches exposées dans ce travail ont été subventionnées par le Fonds national suisse de la Recherche scientifique.

INTRODUCTION

J'adresserai tout d'abord l'expression de ma reconnaissance aux collaborateurs dévoués qui, surmontant les difficultés administratives et les tracasseries douanières ou postales, m'ont expédié les Caméléons étudiés dans ce travail: le Dr R. PAULIAN, sous-directeur de l'Institut scientifique de Madagascar; le Dr R. LAURENT, professeur à Elisabethville (Congo belge); le Dr H.-J. HUGGEL, gérant du Centre scientifique suisse de Côte d'Ivoire; M. J.-L. PERRET, professeur à Sangmelima (Cameroun). A cette liste, j'ajouterai le Dr V. AELLEN (Muséum d'Histoire naturelle de Genève) qui a déterminé ou vérifié la détermination de tous mes sujets.

Dès 1931, j'ai attiré l'attention sur les conditions faciles d'étude cytologique que présente le Caméléon ordinaire, *Chamaeleon chamaeleon*; en 1943, j'ai démontré, sur cette espèce, l'identité de la formule chromosomique dans les deux sexes. Cette démonstration a été étendue au *Ch. bitaeniatus* par J. VAN BRINK et moi-même (1956); la même année, nous avons présenté l'étude cytologique de huit espèces (*Ch. dilepis*, *Ch. fischeri*, *Ch. chamaeleon*, *Ch. pumilus*, *Ch. bitaeniatus*, *Ch. lateralis*, *Ch. voeltzkowi*, *Ch. pardalis*) et donné en appendice la formule chromosomique de trois autres, *Ch. oustaleti*, *Ch. senegalensis*, *Brookesia stumpffi*.

J'apporterai ici, tout d'abord les figures relatives à ces trois dernières espèces, puis l'étude de neuf Caméléons « nouveaux » pour la cytologie, soit *Ch. cephalolepis*, *Ch. parsonii*, *Ch. brevicornis*, *Ch. cristatus*, *Ch. owenii*, *Ch. johnstoni*, *Ch. nasutus*, *Rhampholeon spectrum*.

Ainsi se trouve rassemblée une documentation relative à 20 espèces de *Chamaeleontidae* et aux trois genres que compte cette famille. Dans sa monographie classique de 1911, F. WERNER cite 74 *Chamaeleon*, 7 *Brookesia* et 7 *Rhampholeon*. De 1911 à 1954, le *Zoological Record* indique qu'une trentaine d'espèces ont été décrites. Il est donc probable, compte tenu des mises ultérieures en synonymie, que le nombre d'espèces ne dépasse guère la centaine. L'« échantillon » que je présente ici est donc constitué par le cinquième des espèces connues.

Le but de ces recherches est d'apporter une contribution à la cytologie chromosomique comparée. Le groupe choisi, parfaitement homogène, présente un grand intérêt, en ce qu'il pose des problèmes

de distribution et de filiation très précis. Certes, les résultats obtenus n'offrent encore qu'un intérêt assez mince: peut-être, inviteront-ils des chercheurs, géographiquement mieux placés que je ne le suis, à une analyse extensive de la famille; peut-être, donneront-ils à des taxonomistes l'idée d'une révision systématique des Caméléons sur une base moderne, révision dont l'absence comme il sera expliqué plus bas, m'a interdit de dépasser un certain point de mon enquête.

TECHNIQUE

Des fragments de testicules, de rate ou d'ovaire, prétraités à l'eau distillée pendant huit minutes, puis fixés durant trente minutes à l'acide acétique 50%, sont écrasés entre une lame couverte d'une pellicule d'albumine sèche et une lamelle légèrement grasse. Les préparations sont plongées dans de l'alcool à 70°. Après décolllement de la lamelle et lavage à l'eau, les préparations sont hydrolysées douze minutes à 56° par HCl/N , puis colorées au Feulgen ou à l'hémalum et montées, après déshydratation, dans le baume de Canada (MATTHEY, 1953).

Cette méthode est d'une réussite absolument régulière et donne des résultats parfaits. Je signalerai cependant que les Caméléons reçus en diverses saisons, me sont arrivés parfois dans de très mauvaises conditions et dans un état de misère physiologique qui a évidemment des répercussions fâcheuses sur le nombre des cinèses. Il faut bien se contenter alors des divisions disponibles et renoncer à la sélection rigoureuse des figures que j'ai accoutumé de pousser très loin. Ce sont là des inconvénients inévitables lorsque l'on travaille sur un matériel rare et d'obtention difficile. Autant que possible, j'ai conservé plusieurs jours mes sujets dans un terrarium chauffé et très humide, en leur fournissant une nourriture abondante (Mouches, Sauterelles), parfois en les gavant de Vers de farine décapités et de foie. Mais les Caméléons trop affaiblis devaient être sacrifiés immédiatement.

LA FORMULE CHROMOSOMIQUE CHEZ 20 ESPÈCES DE CHAMAELEONTIDAE (GENRES CHAMAELEON, BROOKESIA, RHAMPHOLEON).

Je donnerai tout d'abord les dessins relatifs aux espèces dont nous avons publié (MATTHEY et VAN BRINK, 1956) la formule

chromosomique dans l'appendice de notre travail; puis je passerai à la description cytologique des neuf espèces n'ayant encore fait l'objet d'aucune publication. Ces descriptions seront brèves, une analyse fouillée figurant dans la seconde partie de cet article. Les espèces seront présentées selon l'ordre suivi par WERNER (1911) dans sa monographie du « Tierreich ».

1) *Chamaeleon senegalensis* Daud. (fig. 1).



FIG. 1.

Chamaeleon senegalensis. Division spermatogoniale. $\times 1.800$.

Ce Caméléon est caractérisé par ses 12 macrochromosomes en V (*M* ou *M*-chromosomes) et ses 12 microchromosomes (*m* ou *m*-chromosomes). La longueur de ces derniers est égale ou un peu inférieure à $1\ \mu$ et le type d'attachement ne peut être précisé.

2) *Chamaeleon oustaleti* Mocq. (fig. 2).



FIG. 2.

Chamaeleon oustaleti. Division spermatogoniale. $\times 1.800$.

Les 22 chromosomes forment une série assez progressivement décroissante; seuls, quatre éléments peuvent être considérés comme *m*-chromosomes.

3) *Brookesia stumpffi* Boettg. (fig. 3).



FIG. 3.

Brookesia stumpffi. Division diploïde de la rate chez la ♀. $\times 1.800$.

Nous retombons ici sur une formule bien connue chez de nombreux Sauriens et sur la signification de laquelle je reviendrai plus loin: il y a 36 chromosomes, soit 12 *M* méta- ou submétacentriques et 24 *m* très petits ($0,2-0,8\ \mu$).

Le seul individu étudié était une femelle, ce qui confirme, le nombre de chromosomes étant pair et les homologues macrochromosomiques faciles à identifier, l'absence d'expression morphologique de la digamétie chez les Sauriens (MATHEY et VAN BRINK, 1956 a).

Voici maintenant la documentation relative aux neuf espèces étudiées cette année.

4) *Chamaeleon campani* Grandid. (fig. 4-6).

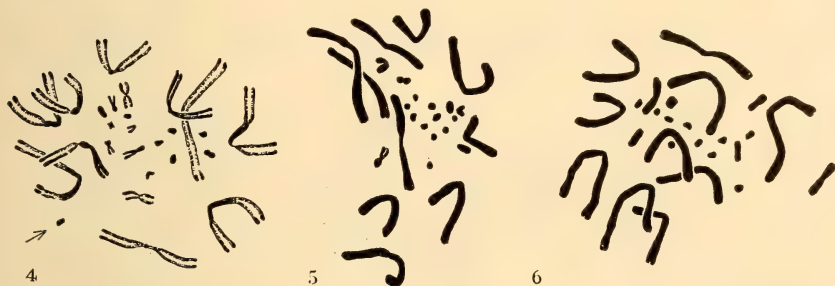


FIG. 4-6.

Chamaeleon campani. Divisions diploïdes somatiques de l'ovaire. $\times 1.800$.

Ici encore, je n'ai disposé que d'une femelle: des cellules somatiques de l'ovaire m'ont livré quelques excellentes figures de mitoses dont les chromosomes peuvent aisément être groupés par paires (absence de digamétie femelle visible). Il y a 12 *M* en V, plus ou moins symétriques et seulement 14 *m* parmi lesquels deux couples relativement grands (environ 2 μ): l'attachement de ces quatre éléments est distinctement médian.

5) *Chamaeleon cephalolepis* Günther. (fig. 7-8).



FIG. 7-8.

Chamaeleon cephalolepis. 7: Division spermatogoniale. 8: Métaphase I. $\times 1.800$.

Cette espèce, originaire des Comores, présente la formule chromosomique suivante: 28 chromosomes, soit sept paires de métacentriques de taille régulièrement décroissante; une paire d'acrocentriques dont les constituants dépassent légèrement trois μ ; enfin cinq paires de petits éléments dont les deux dernières, seules, méritent le nom de *m*-chromosomes ($\leq 1 \mu$). La métaphase I confirme ces données, où nous dénombrons 14 bivalents, dont deux très petits.

6) *Chamaeleon parsonii* Cuv. (fig. 9-11).

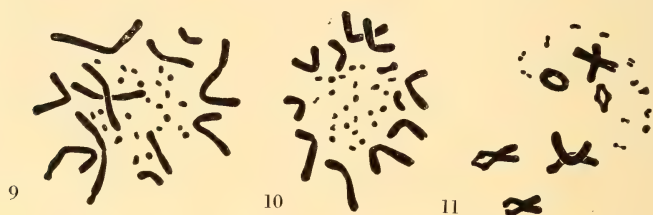


FIG. 9-11.

Chamaeleon parsonii. 9-10: Divisions spermatogoniales. 11: Diacinèse. $\times 1.800$.

Les divisions spermatogoniales nous montrent la même formule que chez *Brookesia*: 12 *M* en V et 24 *m*. La figure 11 se rapporte à une diacinèse où 6 macro- et 12 microbivalents apparaissent.

7) *Chamaeleon brevicornis* Günth. (fig. 12-13).



FIG. 12-13.

Chamaeleon brevicornis.

12: Division diploïde somatique de l'ovaire. 13: Métaphase I. $\times 1.800$.

Le mâle étudié ne montrait que des divisions réductionnelles, la figure 13 se rapportant à une métaphase I: parmi les 16 bivalents, il est aisé de distinguer sept tétrades très petites (*m*-tétrades) et neuf *M*-tétrades. L'analyse des mitoses somatiques de l'ovaire d'une femelle confirme ce classement (fig. 12): il y a 18 grands éléments, tous méta- ou submétacentriques et 14 *m*. Ici encore, l'absence d'une digamétie femelle microscopiquement décelable est patente.

8) *Chamaeleon cristatus* Stutchb. (fig. 14-16).



FIG. 14-16.

Chamaeleon cristatus.

14-15: Divisions spermatogoniales. 16: Métaphase I. $\times 1.800$.

Nous retombons ici sur la formule si répandue chez les Sauriens: $2N = 36$, soit 12 *M* et 24 *m*.

9) *Chamaeleon owenii* Gray (fig. 17-19).



FIG. 17-19.

Chamaeleon owenii.

17: Division spermatogoniales. 18: Métaphase I. 19: Métaphase II. $\times 1.800$.

Cytologiquement, *Ch. owenii* ne se distingue pas de l'espèce précédente. Outre une métaphase diploïde (fig. 17), j'ai représenté les métaphases I et II avec leur assortiment tétradique ou dyadique 6 *M*/12 *m*.

10) *Chamaeleon johnstoni* Blgr. (fig. 20-21).



FIG. 20-21.

Chamaeleon johnstoni.

20: Division spermatogoniale. 21: Métaphase I. $\times 1.800$.

C'est toujours au même type cinétique que cette espèce se rattache, comme les figures 20 et 21 le montrent clairement: $2N = 12 M$ et $24 m$.

11) *Chamaeleon nasutus* Dum. et Bibr. (fig. 22-23).



FIG. 22-23.

Chamaeleon nasutus.

22: Divisions diploïdes somatiques de la rate chez la ♀. $\times 1.800$.

C'est dans la rate de l'unique individu dont j'ai disposé, une femelle, que j'ai trouvé de belles divisions diploïdes. Pour la quatrième fois, nous noterons l'absence de digamétie à l'échelle morphologique.

La formule chromosomique est tout à fait particulière en ce qu'elle montre 16 *M* en forme de V et 18 *m*; la distribution en deux

catégories est nettement tranchée. Les quatre chromosomes désignés par une flèche dans la figure 22 se trouvaient un peu en dehors du groupe principal vers lequel je les ai ramenés.

12) *Rhampholeon spectrum* Buchh. (fig. 24-26).



FIG. 24-26.

Rhampholeon spectrum.

24-25: Divisions spermatogoniales. 26: Métaphase I. $\times 1.800$.

Le nombre diploïde est égal à 20. Il n'est pas possible de tracer une limite nette entre *M* et *m*; en effet, à la suite d'une série de 12 V, comparables par leurs dimensions aux *M* des Caméléons de type 12 *M*/24 *m*, nous trouvons trois paires d'éléments encore nettement métacentriques et mesurant de 2,2 à 1,6 μ ; reste un couple de *m* dont le type d'attachement est indiscernables et dont la longueur est voisine de 0,5 μ . La métaphase I (fig. 26) confirme ce classement.

DISCUSSION GÉNÉRALE

A) Cytologie comparée des Caméléons

Les caryogrammes des 20 espèces de *Chamaeleontidae* étudiés, soit dans ce travail, soit dans la note publiée en collaboration avec J. VAN BRINK (1956), ont été établis de la manière suivante: en raison de l'hétérogénéité du matériel cytologique à disposition (mitoses spermatogoniales de diverses générations, cinèses somatiques de la rate et de l'ovaire), en raison aussi d'une fixation plus ou moins réussie selon l'état physiologique, parfois misérable, de

mes sujets, toute comparaison directe était difficile: j'ai donc admis *a priori* que la longueur totale des chromosomes était la même pour toutes les espèces, si nous considérons des cellules de même catégorie et au même stade. Cette hypothèse est admissible: 1° parce que les nombres diploïdes, compris entre 20 et 36, ne suggèrent à aucun moment l'idée d'une série polyploïde; 2° parce que, dans d'autres groupes de Vertébrés, les *Microtinae* par exemple où l'éventail des valeurs diploïdes va de 17 à 62, j'ai effectivement montré que la longueur totale des chromosomes était toujours la même (1953); 3° parce que des mesures faites sur divers types de cinèses d'un même individu m'ont donné des chiffres extrêmes dont l'écart est aussi grand qu'entre mitoses appartenant à des espèces différentes.

Lorsque le matériel le permettait, j'ai établi des moyennes; lorsque je n'avais que très peu de belles divisions, j'ai simplement choisi celle dont la fixation était la meilleure. Les dessins ayant été exécutés à partir de microphotos (négatif $\times 600$, positif $\times 1.800$) agrandies deux fois ($= \times 3.600$), j'ai projeté ces dessins à l'aide d'un épidiastroscope, ce qui porte le grossissement à 16.000 fois, environ. Il est alors facile de dessiner avec précision l'axe et les deux extrémités de chaque *M*-chromosome et, lorsque les centromères sont distincts, l'emplacement de chacun d'entre eux. A l'aide d'un fil, chaque chromosome est mesuré et je prends: *a*) la longueur moyenne des deux chromosomes d'une même paire; *b*) la moyenne du bras court et du bras long des deux chromosomes d'une même paire; *c*) la longueur totale de tous les *m*-chromosomes. La longueur $a + c$ est alors la longueur totale des éléments dans la figure considérée. Je détermine ensuite le coefficient qui, par multiplication, permet de ramener à une valeur unique les chiffres obtenus pour les diverses espèces. Je me suis contenté d'une seule décimale, car il est bien évident que nous sommes dans le domaine de la grossière approximation: si les mensurations de *M* sont acceptables, il n'en est pas de même pour les *m*-chromosomes: car le « flou » inhérent à la photographie interdit toute mesure exacte et l'erreur commise est fortement multipliée lors des agrandissements ultérieurs; avec des éléments qui ont souvent moins d'un demi micron, cette erreur systématique sera très grande. Malgré ces défauts, la méthode utilisée permet de comparer utilement les divers génomes (fig. 27 et 28).

En tête de la figure 27, j'ai placé *Brookesia stumpffi*: nous trouvons ici une formule sur laquelle j'ai souvent attiré l'attention et sur laquelle je reviendrai plus loin: $N = 6 \text{ } M$ métacentriques et 12 m .

La même formule réapparaît chez 5 espèces de Caméléons, soit *fischeri*, *cristatus*, *owenii*, *johnstoni*, *parsonii*, qui représentent ainsi un groupe cytologique parfaitement homogène. Chez *chamaeleon*, *dilepis* et *senegalensis*, l'assortiment macrochromosomique est le même, mais il n'y a que 6 m dont la longueur totale est sensiblement égale à celle de 12 m du groupe précédent. Quant à *C. pumilus*, encore très proche du premier groupe, il s'en distingue par ses 11 m .

La figure 28 nous montre des génomes très différentes: *C. bitaeniatus* n'a plus que 2 m et tous les autres éléments sont des métacentriques à la longueur régulièrement décroissante; les trois premières paires de M sont constituées par des chromosomes aux bras très inégaux ($1/4$, $1/3$, $1/2$), cas unique chez les *Chamaeleontidae*.

Nous trouvons ensuite sept espèces malgaches: *C. nasutus* a 9 m et 8 M en V ; *C. campani*, 7 m et 6 M en V ; *C. brevicornis* montre également 7 m accompagnant 9 V . Ces 9 V se retrouvent chez *C. oustaleti*, qui n'a plus que 2 m , alors que *C. voeltzkowi* manifeste un génome à m unique succédant à une série de 11 métacentriques de longueur régulièrement décroissante. Un V de moins et c'est *C. pardalis* alors que, chez *C. lateralis*, un petit V remplace l'unique m -chromosome.

C. cephalolepis, habitant de la Grande Comore, possède un assortiment haploïde où 12 V , de plus en plus petits, précèdent 2 m . Enfin, à sa série de 9 métacentriques, *Rhampholeon spectrum* n'adjoint qu'un m unique.

Si nous essayons maintenant de considérer dans son ensemble une situation caryologique passablement complexe, nous sommes frappés du fait que le chromosome n° 6 se présente, dans toutes les espèces, sous le même aspect, celui d'un petit métacentrique à branches égales ou sub-égales. Cet élément se place à la suite de 5 M très comparables d'une espèce à l'autre et précède au contraire des assortiments fort disparates. Nous pourrions dire qu'à l'échelle de l'observation microscopique l'évolution chromosomique a porté surtout sur les chromosomes des paires 7 et suivantes.

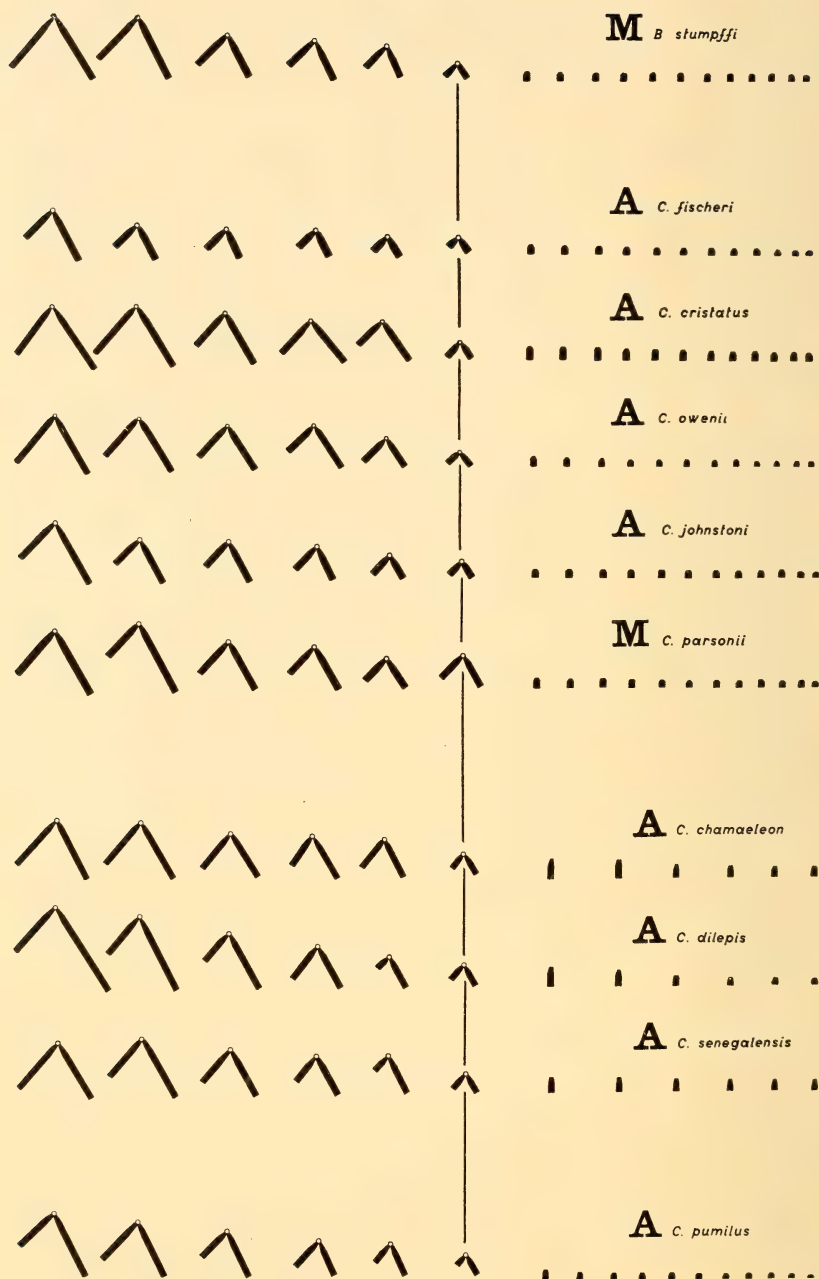
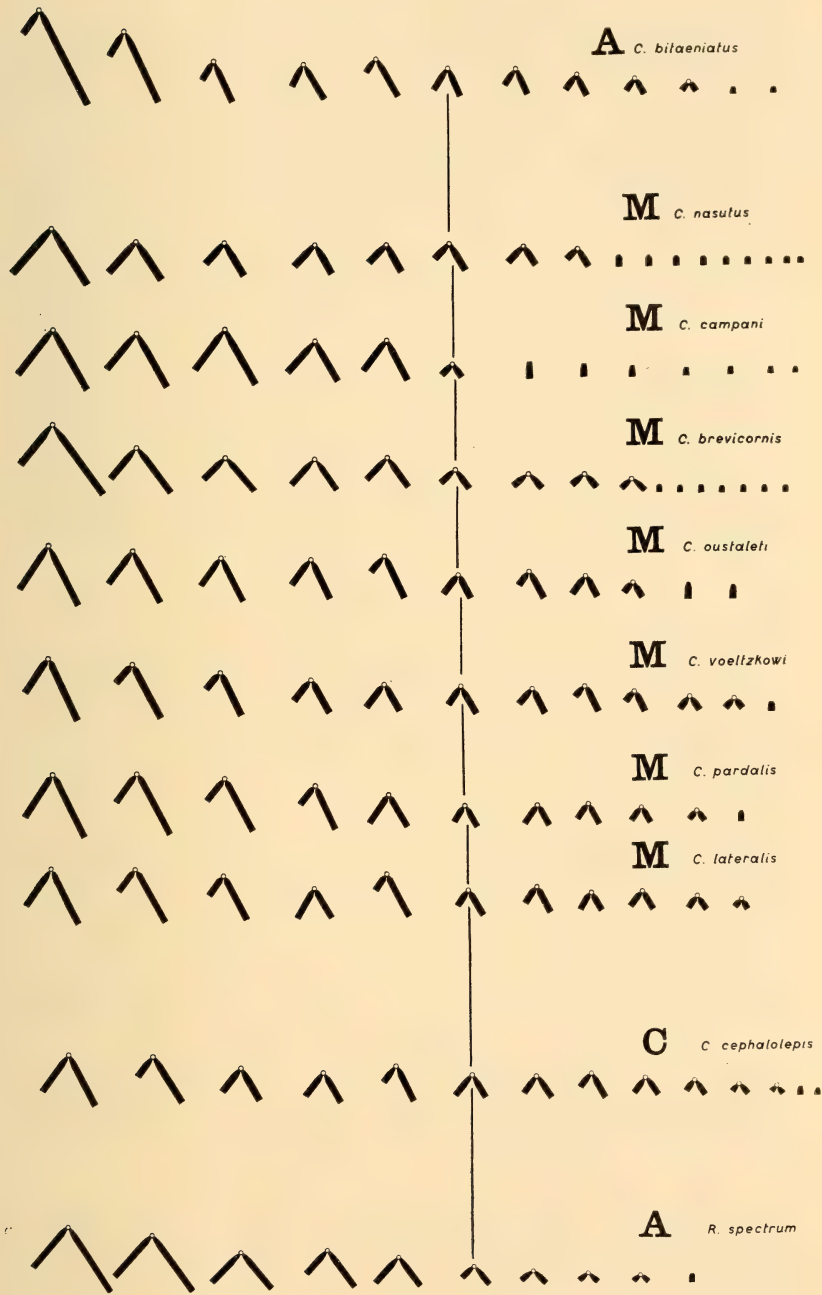


FIG. 27-28.

Les génomes de 20 espèces de *Chamaeleontidae*. A = espèces africaines; M = espèces malgaches; C = espèce des Comores. Le trait noir vertical joint les éléments chromosomiques n° 6 des diverses espèces.



Devons-nous conclure que l'évolution macrochromosomique a été inexistente? La figure 29 répond à cette question: chez 11 des 20 espèces étudiées, nous trouvons un génome que je qualifierai de « continental », en raison du fait qu'il est le plus répandu sur le continent africain; le génome continental est défini: *a*) par la distribution nettement tranchée en *M*, au nombre de 6 et en *m*, par conséquent par l'absence de tout élément de transition entre ces deux catégories; *b*) par la longueur totale des *m* qui ne représente que le 15% environ de la longueur du génome complet; *c*) par la taille approximativement égale de tous les *m*, taille comprise entre 0,4 et 1 μ .

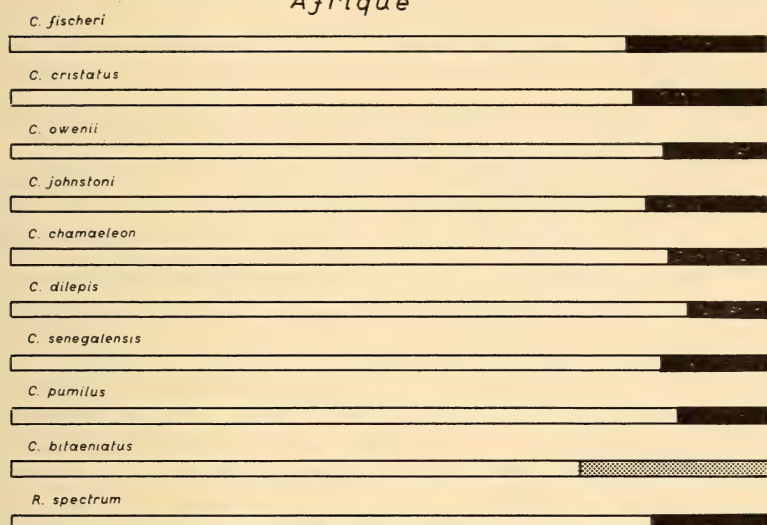
Chez sept autres espèces, nous avons affaire au type « insulaire » prédominant à Madagascar et qui est caractérisé: *aa*) par l'existence d'éléments de transition consécutifs à la sixième paire et par le petit nombre de *m* proprement dits; *bb*) par la longueur totale des chromosomes placés à la suite de cette sixième paire et qui représente environ le 32% du génome complet; *cc*) par l'hétérogénéité morphologique de cette fraction de l'assortiment haploïde.

Un cas intermédiaire est représenté par *C. nasutus*, insulaire en ce que les paires 7 et 8 sont formées de métacentriques à peine plus petits que ceux du couple 6, continental par la nette distribution du stock en *M* et *m*-chromosomes et par le rapport des longueurs *M* et *m*.

Ceci signifie que si nous admettons comme primitif le type insulaire, il y a eu, pour aboutir au type continental, transport de matériel des petits éléments sur les grands. Dans le cas inverse, le type continental étant présumé archaïque, il s'est produit un transfert de matériel macrochromosomique sur les *m*-chromosomes. Dans les deux hypothèses, ces échanges ont été peu importants puisqu'ils sont égaux à la différence 32% moins 15%, c'est-à-dire à moins d'un cinquième de la longueur totale. Remarquons que, si *C. bitaeniatus* congolais se rapproche du type malgache, il présente une sub-métacentrie des trois premiers *M* que je n'ai retrouvée dans nulle autre espèce.

L'homologie morphologique des six premières paires étant évidente, est-il possible de concevoir la nature des changements intervenus à partir de la septième? Pour les Caméléons de type continental, il n'y a pas de difficultés majeures: des six espèces

Afrique



Madagascar



FIG. 29.

La portion blanche des barres horizontales correspond à la longueur des 6 premiers chromosomes des divers génomes; la portion noire ou ponctuée à la longueur des autres éléments. Cette portion est en général plus longue dans le type « insulaire » (ponctué) que dans le type « continental » (en noir plein).

à 24 *m*, on peut dériver *C. pumilus*, qui n'en possède que 22, par disparition d'une paire, la situation étant analogue à celle que j'ai autrefois rencontrée dans le genre *Lacerta* où *L. vivipara* se distingue de toutes les autres espèces par l'absence du couple unique de *m* (OGUMA, 1934; MATTHEY, 1934).

Dans le groupe *chamaeleon-dilepis-senegalensis*, il n'y a que 12 *m* à l'état diploïde, chacun d'entre eux correspondant à 2 *m* des formes à 24, cette fusion étant clairement indiquée par la taille de ces petits éléments, encore que l'impossibilité de déterminer le type d'attachement interdise de préciser la nature de cette fusion.

Le problème devient très complexe lorsque nous abordons le type insulaire: en effet, ici encore, l'indétermination de la position centromérique pour les *m*-chromosomes nous prive de la possibilité d'évaluer le nombre fondamental (= nombre de bras), ce qui exclut tout schéma simple de type robertsonien. J'ai montré ailleurs (MATTHEY, 1954, pp. 32-33) que ce schéma ne s'applique généralement pas aux chromosomes de petite taille.

En examinant la figure 28, on constate que l'homologie morphologique, générale jusqu'au sixième chromosome, existe encore pour les éléments 7 et 8 chez neuf des dix espèces de type « insulaire »; pour l'élément 9, cette homologie n'est plus valable que chez huit espèces; pour le 10, chez quatre, pour le 11, chez trois. Enfin, une seule espèce possède un douzième métacentrique (*C. cephalolepis* de Comore). En d'autres termes, plus nous allons vers la droite des caryogrammes, c'est-à-dire vers des éléments de plus en plus petits, moins nombreuses sont les homologies.

Le cas des genres *Brookesia*, qu'ANGEL (1933, 1942) démembre en trois genres distincts, *Leandria*, *Evoluticauda* et *Brookesia*, et *Rhampholeon* est intéressant à considérer, car leurs affinités sont si grandes qu'il a été proposé de les réunir en un genre unique: or, *Brookesia*, de Madagascar, a le type continental de génome 6 *M*/12 *m*, et *Rhampholeon*, du Camérout, un type insulaire où les 12 *m* de *Brookesia* sont remplacés par 3 *V* et un seul couple de *m*; cependant, la longueur totale des éléments sis à droite de la sixième paire est la même: ceci impliquerait (mais je rappelle que mes mesures ne peuvent donner qu'un ordre de grandeur et ne sont nullement assurées statistiquement) que les trois petits *V* de *Rhampholeon* ne correspondent pas seulement à 6 *m* (évaluation robertsonienne), mais à 11 de ces petits éléments.

B) *Formules chromosomiques, distribution géographique
et paléontologie*

La figure 30 illustre la distribution des nombres haploïdes chez les vingt espèces étudiées. Alors que dans certains groupes la distribution est franchement unimodale (MATTHEY, 1953-1957), nous trouvons ici deux sommets, l'un à $N = 12$, l'autre à $N = 18$, ce dernier constituant en même temps le maximum observé. Les classes 10 à 14 renferment onze espèces; la classe 15 n'est pas représentée. Les classes 16 à 18 groupent neuf espèces. Dans la catégorie 10 à 14, il y a cinq espèces africaines et six malgaches, dans le groupe 16 à 18, cinq africaines et quatre malgaches. Cependant, une formule de type continental se rencontre huit fois sur dix chez les Caméléons africains et trois sur neuf dans les formes insulaires; j'ai en outre signalé que *C. nasutus* occupait une situation intermédiaire.

A considérer le matériel dont nous disposons, il est permis de discerner deux tendances évolutives dans la différenciation chromosomique de la famille: les espèces africaines tendent à une distribution tranchée en *M* et *m*-chromosomes; les malgaches ne montrent, à partir du sixième élément, aucune discontinuité majeure, et, passant d'un chromosome au suivant, le déclin de taille s'effectue aussi graduellement que pour les *M*-chromosomes. Les exceptions pourraient être considérées comme provenant d'échanges anciens entre la grande île et le continent.

Ceci nous amène à considérer l'histoire géologique de Madagascar: selon TERMIER (1952), Madagascar a été réunie à l'Afrique durant tout le Primaire et jusqu'au Trias supérieur, puis de nouveau à l'Oligocène, enfin pour la dernière fois au Pléistocène, lors du maximum de l'extension glaciaire.

D'autre part, le pont lémurien (?) unissant les Indes et Ceylan à Madagascar aurait disparu au Crétacé supérieur.

L'origine des Caméléons demeure, en absence de fossiles caractéristiques, très obscure: à la suite de COPE, CAMP (1923), puis ROMER (1947) se rallient à l'hypothèse d'une origine agamienne: «There would seem few or no objections from morphological or distributional viewpoints against deriving the chameleons from highly developed agamids at the beginning of the Tertiary»

(CAMP). Selon un schéma du même auteur la bifurcation Agamides-Chaméléontides se placerait à la fin du Crétacé.

Quant à la distribution géographique, nous savons que l'Afrique tropicale et Madagascar, avec un nombre d'espèces à peu près égal pour ces deux territoires, mais sans qu'une seule d'entre elles

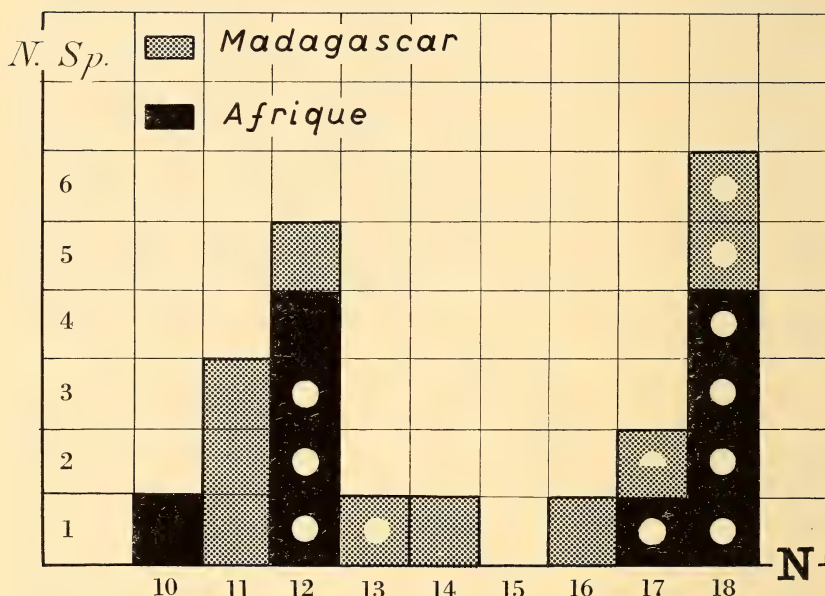


FIG. 30.

Histogramme: en abscisse, les nombres haploïdes (N); en ordonnée, le nombre d'espèces (N. Sp.) de chaque classe. Une pastille blanche désigne les espèces relevant du type chromosomique « continental », les autres étant de type « insulaire ». Une demi-pastille se rapporte à un type intermédiaire.

leur soit commune, abritent la quasi-totalité des Caméléons. Cependant, *C. chamaeleon* habite le sud de l'Espagne, quelques îles de la Méditerranée et les rivages de l'Afrique du Nord et de l'Asie mineure. L'extension vers l'est se poursuit par des formes de l'Arabie et s'achève dans le Dekkan et à Ceylan avec le *C. calcaratus*.

Cette distribution peut donner lieu à deux interprétations: l'opinion classique, défendue encore tout récemment par BEAUFORT (1951), c'est que le groupe, africain d'origine, a secondairement envahi Madagascar et, à partir du nord de l'Afrique, poussé ses

avant-gardes vers les Indes et Ceylan. La seconde hypothèse postule une origine malgache et un envahissement secondaire de l'Afrique. Dans cette conception, les Caméléons de Ceylan pourraient être un reliquat d'une faune lémurienne ancienne aussi bien que les descendants d'une invasion venue de l'ouest. Disons, pour ne plus y revenir, que ce dernier problème pourra très vraisemblablement être résolu par l'analyse cytologique du Caméléon cynalais.

Revenons à la question principale: Madagascar a-t-elle peuplé l'Afrique ou l'Afrique, Madagascar? L'existence d'une connexion à l'Oligocène cadre assez bien avec le moment que CAMP assigne à la séparation des Caméléons d'avec leur souche agamienne (Crétacé supérieur ou Paléocène), la réunion pléistocène ultérieure semblant beaucoup trop récente pour avoir joué un rôle.

Mes observations montrent la prédominance des formules insulaires à Madagascar, des formules continentales en Afrique. Or, la formule continentale typique, $N = 6 M$ en V et $12 m$, présente un intérêt tout spécial: « Une telle formule caractérise des *Iguanidae* (*Anolis*), des *Agamidae* (*Agama*, *Uromastix*), des *Gerrhosauridae* (*Gerrhosaurus*), des *Amphisbaenidae* (*Trogonophis*). De cette formule, dérivent aisément par mécanismes robertsoniens de nombreux autres génomes qui, tout en conservant un nombre de m égal ou voisin de 24, offrent à l'observateur toutes les combinaisons que permettent les 24 bras de $12 M$ métacentriques: $10 V + 4 I$ (*Heloderma*), $8 V + 8 I$ (*Varanus*), $6 V + 12 I$ (*Xantusia*), $4 V + 16 I$ (*Pseudopus*). Notons que cette distribution en M et m n'est pas générale: dans une même famille, MATTHEY a rencontré des espèces où elle existe, d'autres où l'on observe un déclin graduel de la taille en passant d'une paire à la suivante: chez les *Tejidae*, *Tupinambis* est du premier type, *Cnemidophorus* et *Ameiva* du second; chez les *Amphisbaenidae*, *Trogonophis* et *Blanus* possèdent M et m , mais non *Rhineura*. Il semble que la formule $(12 M + 24 m)$ que l'on ne saurait considérer comme primitive puisqu'elle fait défaut dans les types archaïques que représentent les *Geckonidae* pour les Sauriens, les Rhynchocéphales pour l'ensemble des Diapsides, corresponde à un état d'équilibre particulièrement stable et qui s'est réalisé par évolution convergente dans toute une série de familles. WHITE (1945, 1954) a créé le terme de « principe de changement homologue » pour désigner ce type d'évolution chromoso-

mique. » (MATTHEY et VAN BRINK, 1956). On voit, d'après cette citation, que j'incline à voir dans cette formule hautement spécialisée, non pas la permanence d'un génome primitif, mais au contraire un état d'équilibre consécutif à une évolution chromosomique antérieure à partir d'un type primitif où la séparation en deux catégories faisait défaut. S'il est permis de raisonner par analogie, j'ajouterai que mes recherches sur l'évolution chromosomique des *Microtinae* (1957) montrent sans ambiguïté que l'évolution robertsonienne se fait surtout dans le sens $2\text{ I} \rightarrow 1\text{ V}$ et qu'un génome formé uniquement de *M* métacentriques représente un stade tardivement réalisé.

Il me semble donc permis d'affirmer que les Caméléons de formule continentale sont chromosomiquement plus évolués que ceux de type insulaire, ce qui revient à dire que l'évolution chromosomique a été en général plus rapide en Afrique qu'à Madagascar. En général, puisqu'il a des exceptions que nous avons provisoirement expliquées par des échanges faunistiques possibles lors de la où des dernières réunions des deux territoires, mais qui pourraient être interprétées plus vraisemblablement comme résultant d'une évolution plus rapide pour certains rameaux malgaches, plus lente pour certaines lignées africaines. En effet, dans l'hypothèse d'échanges tardifs, on devrait s'attendre à rencontrer des espèces communes aux deux habitats, ce qui n'est pas le cas.

Et c'est ici que l'investigation aboutit à une impasse: pour aller plus loin, il serait nécessaire de disposer d'une monographie des Caméléons où, d'un point de vue morphologique, le degré de spécialisation des diverses espèces serait apprécié. Nous pourrions alors confronter les résultats de notre analyse avec ceux du taxoniste. Bien que, *a priori*, il n'y ait pas de raison pour que l'évolution chromosomique soit parallèle à l'évolution morphologique, il peut cependant en être ainsi, comme je l'ai montré dans le cas des *Microtinae* (1957). Mais un tel travail n'existe pas et la seule indication que j'ai trouvée est une affirmation d'ANGEL (1942) selon laquelle le genre *Brookesia s.s.* (*Brookesia*, *Leandra*, *Evoluticauda*) manifeste « le plus haut terme de la différenciation dans toute la famille ». Rappelons que *Brookesia* est précisément doté de la formule: $\text{N} = 6\text{ M} + 12\text{ m}$.

En conclusion, si la cytologie est incapable de nous apprendre dans quel sens s'est faite l'émigration des Caméléons archaïques,

elle nous démontre pourtant deux tendances évolutives de la formule chromosomique à l'intérieur du groupe, l'une surtout malgache, l'autre, plus spécialisée, surtout africaine.

C) *Classification et cytologie comparée*

Aux simples listes d'espèces dont nous disposons, l'analyse cytologique permet d'adjoindre un classement des *Chamaeleon* en groupes d'espèces. Mais affirmons tout d'abord, comme je l'ai fait dans tous mes travaux de cytologie comparée à partir de 1931, que je ne songe nullement à donner la prééminence au critère chromosomique: la formule chromosomique représente, comme tous les autres caractères morphologiques, l'une des données dont peut disposer la systématique, et une systématique aura d'autant plus de chances d'être valable qu'elle s'appuyera sur des documents nombreux et variés. Le fait même qu'une formule de type $N = 6M + 12m$ se rencontre dans toute une série de familles nous interdit de penser que les Caméléons présentant cette formule seront nécessairement étroitement apparentés. Il est clair que ce type a été réalisé dans des rameaux indépendants, qu'il nous prouve l'existence, à ce niveau d'observation, d'évolutions parallèles ou convergentes reflétant tout au plus l'existence de tendances génétiques communes. Mais il n'est pas moins évident que la possession d'une même formule chromosomique *peut* être l'indice d'affinités interspécifiques étroites, si l'analyse morphologique conduit à cette interprétation. Il est hors de doute que l'évolution chromosomique, si étroitement intriquée avec l'évolution génétique, doit être comprise si le fait de l'évolution veut être appréhendé dans sa totalité.

Si nous revenons aux figures 27 et 28, nous pouvons procéder à un classement.

ESPÈCES AFRICAINES. — La formule continentale typique nous permet de rapprocher *C. fischeri*, *C. owenii* et *C. johnstoni*; notons en outre que les mâles de ces trois espèces ont des caractères sexuels secondaires du même type (appendices céphaliques cornus) et que la distribution géographique est franchement équatoriale. *C. cristatus*, équatorial lui aussi, a la même formule, mais une crête dorsale et pas de caractères sexuels secondaires accentués. Le

C. pumilus de la région du Cap a une paire de *m* en moins; l'espèce vivipare est de faible taille et les mâles sont dépourvus de caractères secondaires.

C. chameleon, *C. senegalensis*, *C. dilepis* ont la même formule $N = 6 M + 6 m$. Morphologiquement, ils se ressemblent beaucoup et constituent un groupe très naturel, plutôt occidental et remontant, par la première de ces espèces, très haut vers le nord.

Quant au *C. bitaeniatus*, vivipare, il s'éloigne cytologiquement de toutes les espèces africaines étudiées.

ESPÈCES MALGACHES. — Seul, *C. parsonii* a une formule continentale typique. Près de lui, nous pouvons placer *C. campani* ($6 M + 7 m$), également continental par la distribution si nette des chromosomes en deux lots. Cette distribution tranchée se retrouve chez *C. nasutus*, mais la démarcation se place après l'élément n° 8 du génome ($8 M + 9 m$), alors que chez *C. brevicornis* elle succède à l'élément n° 9 ($9 M + 7 m$).

Le type insulaire nous permet de rapprocher *C. oustaleti*, *C. voeltzkowi*, *C. pardalis* et *C. lateralis*. Jusqu'à la neuvième paire, leurs chromosomes sont morphologiquement très semblables. La paire 10 est devenue microchromosomique chez *C. oustaleti*, alors qu'elle est encore distinctement en V chez les trois autres espèces. La paire 11, métacentrique chez *C. voeltzkowi* et *C. lateralis*, est remplacée par un couple de *m* chez *oustaleti* et *pardalis*. *C. voeltzkowi* possède en outre une douzième paire microchromosomique, alors que le génome des autres espèces ne compte que onze chromosomes.

C. cephalolepis, de la Grande Comore, franchement insulaire, a 14 paires de chromosomes, dont deux couples de *m*.

Quant aux genres *Rhampholeon* et *Brookesia*, j'ai montré précédemment les différences cytologiques marquées qui les séparent.

CONCLUSIONS

1. Utilisant et complétant les résultats exposés en collaboration avec J. VAN BRINK (1956) et qui portaient sur 11 espèces, l'auteur apporte une documentation nouvelle sur 9 autres espèces de *Chamaeleontidae*.

2. Chez quatre espèces où les mitoses ont pu être étudiées dans le sexe femelle, il n'existe pas de chromosomes sexuels à l'échelle morphologique.

3. Il existe deux types principaux de formules chromosomiques: l'un, dit « continental » est caractérisé par une séparation tranchée en deux lots de macro- et de microchromosomes (M et m), la limite se plaçant à la suite de la sixième paire; le second, dit « insulaire » est défini par un déclin graduel de la taille, lorsqu'on passe d'une paire à la suivante. Dans le type continental, la longueur totale des éléments consécutifs à la sixième paire représente environ le 15% de la longueur totale du génome; le 32% dans le type insulaire.

4. Le type continental caractérise 8 des 10 *Chamaeleontidae* africains étudiés; le type insulaire, 7 des 10 espèces malgaches.

5. La sixième paire est morphologiquement très semblable chez toutes les espèces analysées. Les M -chromosomes sont également très comparables d'une espèce à l'autre, alors qu'à partir de la sixième paire, une évolution chromosomique très active se traduit par des assortiments très disparates.

6. Les genres *Brookesia* et *Rhampholeon* sont cytologiquement bien distincts et exceptionnels en ce que *Brookesia* (malgache) est de type continental et *Rhampholeon* (africain) de type insulaire.

7. En utilisant la morphologie chromosomique, il est possible de proposer un groupement systématique des espèces étudiées.

8. Il est suggéré que l'évolution chromosomique a été plus rapide en Afrique qu'à Madagascar.

AUTEURS CITÉS

- ANGEL, F. 1933. *Sur un genre malgache nouveau, de la famille des Chamaeleontidés*. Bull. Musée Hist. nat. Paris, 5.
- 1942. *Les Lézards de Madagascar*. Mém. Acad. Malgache, 36.
- BEAUFORT (DE), L. F. 1951. *Zoogeography of the land and inland waters*. Sidgwick and Jackson Lim. London.
- CAMP, C. L. 1923. *Classification of the Lizards*. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 48.
- MATTHEY, R. 1931. *Chromosomes de Reptiles, Sauriens, Ophidiens, Chéloniens: L'évolution de la formule chromosomiale chez les Sauriens*. R. S. Zool., 38.
- 1933. *Nouvelle contribution à l'étude des chromosomes chez les Sauriens*. Ibid., 40.
- 1934. *La formule chromosomiale du Lacerta vivipara* Jacquin. C. R. Soc. Biol., 117.

- MATTHEY, R. 1943. *Le problème des hétérochromosomes chez les Sauropsidés. Reptiles*. Arch. J. Klaus Stift., 18.
- 1953. *Les chromosomes des Muridae*. R. S. Zool., 60.
- 1954. *Nouvelles recherches sur les chromosomes des Muridae*. Caryol., 6.
- 1957. *Cytologie comparée, systématique et phylogénie des Microtinae (Rodentia-Muridae)*. R. S. Zool., 64.
- MATTHEY, R. et J. VAN BRINK. 1956. *Note préliminaire sur la cytologie chromosomique comparée des Caméléons*. Ibid., 63.
- 1956 a. *La question des hétérochromosomes chez les Sauropsidés. I. Reptiles*. Exper., 12.
- OGUMA, K. 1934. *Studies on the sauropsid chromosomes. II. The cytological evidence proving female heterogamety in the lizard (Lacerta vivipara)*. Arch. Biol., 45.
- ROMER, A. S. 1947. *Vertebrate Paleontology*. Univ. Chicago Press.
- TERMIER, H. et G. 1952. *Histoire géologique de la Biosphère*. Masson, Paris.
- WERNER, F. 1911. *Chamaeleontidae*. (Tierreich.) Berlin.
- WHITE, M. J. D. 1954. *Animal cytology and Evolution*. Cambridge.
-

The relation of male hormone to phosphatase activity in the seminal vesicle of the guinea pig¹

by

Evelina ORTIZ, Eva R. BROWN and Bruce E. WILEY

(Department of Zoology, University of Chicago, Illinois)

*In honor of Professor K. Ponse on
the occasion of her sixtieth birthday*

Hormones are undoubtedly important enzyme regulators, although their specific mode of action is not yet clearly understood. The study of hormone-enzyme relationships has been widely undertaken, and the extensive literature is critically reviewed in the recent paper of KNOX, AUERBACH and LIN (1956). Studies on the male accessory reproductive glands almost invariably indicate the necessity of male hormone for normal enzyme concentration (or activity), although there are in some instances, exceptions in which the removal of the gonads has produced no change or has increased the enzyme level in some accessory glands.

The response in phosphatase activity to male hormone in the guinea pig has been investigated by BERN and LEVY (1952), who found that after a long castration period of 3½ months, the enzyme activity in the seminal vesicle was greatly depressed. Their work left open the question of whether this gland could respond more rapidly to the loss of male hormone. This is especially pertinent, since it has recently been shown that other functional activities

¹ This research was aided by Grant RG 2912 United States Public Health Service and by the Dr. Wallace C. and Clara A. Abbott Memorial Fund of the University of Chicago.

of this gland in the guinea pig are markedly inhibited after a much shorter castration period (LEVEY and SZEGO 1955; ORTIZ, PRICE, WILLIAMS-ASHMAN and BANKS 1956).

We are now conducting a series of biochemical and histochemical studies on the seminal vesicle of the guinea pig in order to examine the sequence of changes in metabolic activity which occur in this gland in response to hormonal alterations. This includes determinations of phosphatase activity after different castration periods and hormone treatments. The present paper is a preliminary report on the quantitative determinations of acid and alkaline phosphatase activity after several weeks of castration and subsequent treatment with male hormone.

MATERIALS AND METHODS

These experiments were performed on 25 adult male guinea pigs of a mixed strain kept in the laboratory for many years. The animals were 3 months to 1½ years of age. There were 10 normal animals in group A, 10 castrates in group B, and group C consisted of 5 castrates which had been injected with testosterone propionate.¹ The period of castration in groups B and C was 5 to 7 weeks, and the injected castrates received 2.5 mg/day of the hormone for the last 2½ weeks.

At autopsy the animals were given slight ether anaesthesia, followed by decapitation and bleeding. The paired seminal vesicles were quickly removed and weighed, immediately transferred to a dish immersed in ice, and kept very cold during subsequent manipulations. A section of the gland was slit open, the secretion carefully removed without damage to the mucosa, and the tissue washed in two changes of cold distilled water to remove the secretion completely. After the tissue was dried on hard surfaced filter paper, it was weighed and homogenized in cold distilled water. The secretion of the seminal vesicles from the normal animals was also analyzed.

Homogenates were first made at 10 mg/ml. They were further diluted to 0.5 mg/ml, after preliminary experiments indicated

¹ Grateful acknowledgment is made to Dr. Edward Henderson, of the Schering Corporation, Bloomfield, New Jersey, for his generous supply of this hormone.

extremely high enzyme activity in the tissue. The homogenates made of secretion were used at 10 mg/ml for the alkaline and diluted to 1 mg/ml for the acid phosphatases.

Phosphatase method.

The method used was that of King-Armstrong as modified by BINKLEY, SHANK and HOAGLAND (1944) and by MOOG (1946). Phosphatase activity was determined as μg of phenol (read from a standard curve with tyrosine) liberated by 100 mg of fresh tissue (or secretion) after incubation with disodium phenylphosphate and the appropriate buffer at pH 5.3 and 9.4. In the alkaline, MgCl_2 was used as activator.

Incubation time was 5 minutes for the alkaline phosphatases and 15 minutes for the acid. Each determination was made in duplicate, each tube containing 0.5 ml homogenate and 2.5 ml buffer-substrate. A third tube without homogenate served as blank. The color was read at 550 $\text{m}\mu$ in a Coleman spectrophotometer after standing for 10 to 30 minutes.

The following experiment indicated that most of the color represented enzyme activity. With tissue of one normal male, determinations were made in duplicate and one blank as usual, but one control tube was added containing homogenate and buffer-substrate, in which the reaction was stopped before incubation. Results of optical density readings showed that 85% of the color in the alkaline range and 80% in the acid, resulted from enzyme activity.

Final results on phosphatase activity were expressed as μg phenol/100 mg/minute, and they were analyzed by the Student t-test for statistical significance of the mean differences. Probability values are included in the table.

Nitrogen method.

Nitrogen was determined in the homogenates of about one-half of the animals. With the micro-Kjeldahl method 2 aliquots were run for each homogenate, with 3 standards and 1 blank of distilled water. Nitrogen units correspond to μg nitrogen per mg wet weight.

RESULTS

The table summarizes the results obtained in the weight, phosphatase activity and nitrogen of the seminal vesicles of all the animals used. The body weight of each animal is also included, and the weight of the seminal vesicle is expressed per 1000 g body weight.

Phosphatase activity in the normal glands showed great variation which was not correlated with age or with the size of the gland. Enzyme activity in the tissue was very high, especially in the alkaline range. The secretion, however, showed extremely low levels of activity, which are not included in the table. The mean of the alkaline phosphatase in the secretion was 66, and of the acid, 100 phosphatase units. Since these levels of activity can be considered insignificant, it is indicated that the phosphatases are not normally released into the secretion.

Castration produced a very significant drop in the activity of both phosphatases ($t = 15$ and 12). Results were less variable in the castrates than in the normal animals and the variation in enzyme activity was not correlated with variation in organ weight, body weight or age.

The injection of male hormone into castrates restored the high enzyme activity and the normal weight of the gland. However, in the acid phosphatases the range of activity in the castrates and the injected castrates showed such overlap, that the difference of the two means was of doubtful significance ($P = 0.02 - 0.05$). This is very likely due to an error of sampling because of the small number of injected animals.

From the N_2 determinations it can be observed that the fresh weights of seminal vesicle tissue in the 3 groups of animals represented comparable samples. Nitrogen values were remarkably consistent in all groups.

DISCUSSION

The results indicate that the activity of alkaline and acid phosphatases in the seminal vesicle of the guinea pig is largely under the control of male hormone and that a castration period of 5 to 7 weeks produces a marked inhibition of this activity. Thus,

the phosphatase response of this gland to male hormone can occur more rapidly than was previously reported by BERN and LEVY (1952). It must still be determined whether castration for periods much shorter than 5 weeks will inhibit enzyme activity, as has been found in the rat (STAFFORD, RUBINSTEIN and MEYER 1949; PORTER and MELAMPY 1952). LEVEY and SZEGO (1955) have observed that in guinea pigs castrated for only 2 weeks the oxidative metabolism of the epithelium of the seminal vesicle is already defective. The levels of secretory activity of fructose and citric acid in this epithelium are also very low by 4 weeks of castration, and it is strongly suspected that the gland is no longer actively secreting these products (ORTIZ, PRICE, WILLIAMS-ASHMAN and BANKS 1956). Thus, it appears that the metabolism of this gland is affected quite rapidly by hormone deprivation.

An important point brought out in our experiments is the fact that in the normal guinea pig these phosphatases seem to be localized entirely in the tissue and are not normally released into the secretion, as are fructose and citric acid. This emphasizes for enzyme studies in this gland, the need of completely removing the secretion from the tissue by washing, as well as the desirability of performing separate analyses of the gland and of secretory material. BERN (1949) and BERN and LEVY (1952), however, have stated that there was marked phosphatase activity both in the epithelium and in the secretion, but their statement was based mainly on histochemical findings, and they did not perform quantitative determinations of the secretion. Their conclusion has not been confirmed by our quantitative findings, since the secretion showed mean values of phosphatase activity which are definitely insignificant. With determinations done on cell fractions of seminal vesicle mucosa in the guinea pig, KELLERMAN (1955) has localized the alkaline phosphatases in the free border of the epithelium, while the acid was distributed throughout the cell. However, he did not study the secretion.

The role of the phosphatases, particularly the alkaline group, has been subject of speculation for several years. The theory of MANN and his associates (1951 *a*; *b*; 1954), further investigated by others (PARR and WARREN 1951; KELLERMAN 1955), suggests that alkaline phosphatases facilitate fructose liberation in the seminal vesicle or other accessory glands which produce fructose. On the

other hand, WILLIAMS-ASHMAN and BANKS (1954) having observed the presence of ketose reductase in fructose-producing glands, postulated the possible role of this enzyme in the transformation of glucose into fructose with sorbitol as intermediary product. This has been confirmed by HERS (1956 *a*; *b*; 1957) who has further shown the two steps in this transformation, involving 2 different enzymes. Thus, aldose reductase facilitates the transformation of glucose into sorbitol and ketose reductase, the change of sorbitol into fructose.

It is recognized that before specific functional roles can be assigned to the alkaline and the acid phosphatases, it would be necessary to identify the different enzymes in each group. In the seminal vesicle of the guinea pig, NEWMAN, FEIGIN, WOLF and KABAT (1950) have localized by histochemical methods at least two groups of phosphatases at pH 9.2.

It can be concluded that while the functional significance of the alkaline and acid phosphatases remains unknown, there is little doubt that in the seminal vesicle of the guinea pig these enzymes are under hormonal control by the testis. Furthermore, there is a very marked regression in phosphatase activity after 5 to 7 weeks of castration.

SUMMARY

Quantitative determinations of the activity of alkaline and acid phosphatases were made in the seminal vesicle of 25 guinea pigs, including normal, castrates and castrates injected with 2.5 mg/day of testosterone propionate. Analyses were made by incubation of homogenates of washed tissue (and of secretion in the normal glands) in phenylphosphate substrate with the appropriate buffer. While phosphatase units are expressed per mg of fresh tissue, the analyses of nitrogen in tissue samples indicated no difference in protein concentration in the three groups.

In the normal tissue the activity of both phosphatases was very high, and the alkaline activity was about 4 times as high as that of the acid. The secretion of normal glands showed no significant levels of phosphatase activity.

Castration for 5 to 7 weeks caused very marked reduction in phosphatase activity in the tissue, while the injection of male hormone re-established normal levels of enzyme activity.

The effect of male hormone on seminal vesicle phosphatases in the guinea pig

Phosphatase units = μg phenol/minute liberated from phenylphosphate substrate by 100 mg wet weight of washed tissue.

Nitrogen units = μg N_2 /mg wet weight.

Group	Body weight (g)	Seminal Vesicle (g/1000g body weight)	Phosphatases		Nitrogen
			Alkaline	Acid	
A. Normal	980	5.1	3323	866	
	1160	5.9	3200	826	
	568	4.6	9920	1173	27.3
	628	2.8	5760	1226	29.4
	603	3.2	2240	667	26.0
	872	4.7	4320	1147	28.0
	570	3.0	2560	1066	23.8
	480	3.3	3200	746	
	876	10.3	3280	853	
	508	4.2	4080	827	
Mean:	725	4.7	4188	940	26.9
B. Castrates	1160	1.1	740	560	
	670	0.9	720	453	31.8
	1180	2.0	560	400	—
	810	1.6	1200	960	26.0
	941	1.5	800	613	30.5
	866	1.1	720	1040	26.0
	770	1.4	800	456	26.8
	790	1.0	560	456	
	596	0.8	560	533	
	590	1.4	272	320	
Mean:	837	1.3	693	579	28.2
C. Castrates + testosterone propionate	1103	5.3	1200	613	
	768	4.3	5120	1120	25.8
	1240	4.7	4480	667	—
	770	6.0	2880	960	25.8
	982	3.1	7680	1410	29.7
Mean:	973	4.7	4272	954	27.1
Probability					
A. vs. B.	P = .2-.3	P < .01	P < .001	P < .001	—
C. vs. B.	P = .2-.3	P < .001	P < .001	P = .05-.02	—

LITERATURE CITED

- BERN, H. A. 1949. *The distribution of alkaline phosphatase in the genital tract of male mammals*. Anat. Rec. 104: 361-377.
- and R. S. LEVY. 1952. *The effects of castration, estrogen administration, and methylcholanthrene carcinogenesis on phosphatase activities in the genital tract of male rats, guinea pigs, and rabbits*. Am. J. Anat. 90: 131-166.
- BINKLEY, F., R. E. SHANK and C. L. HOAGLAND. 1944. *Modification of the King-Armstrong method for the determination of phosphatase*. J. Biol. Chem. 156: 253-256.
- HERS, H. G. 1956a. *Le mécanisme de la transformation de glucose en fructose par les vésicules séminales*. Biochim. et Biophys. Acta 22: 202-203.
- 1956b. *Transformation « in vitro » du glucose en fructose par les vésicules séminales de mouton*. Arch. Intern. Physiol. et Biochim. 64: 133.
- 1957. *Le métabolisme du fructose*. Editions Arscia, 60, rue de L'étuve, Bruxelles.
- KELLERMAN, G. M. 1955. *The metabolism of the seminal vesicle of the guinea pig*. IV. *The role of hexokinase and phosphatase in the formation of fructose*. Austr. J. Exper. Biol. and Med. Sc. 33: 579-592.
- KNOX, W. E., V. H. AUERBACH and E. C. C. LIN. 1956. *Enzymatic and metabolic adaptations in animals*. Physiol. Rev. 36: 164-254.
- LEVEY, H. A. and C. M. SZEGO. 1955. *Effects of castration and androgen administration on metabolic characteristics of the guinea pig seminal vesicle*. Am. J. Physiol. 183: 371-376.
- MANN, T. 1954. *The Biochemistry of Semen*. Methuen's Monographs. London: Methuen and Co. 240 pages.
- and C. LUTWAK-MANN. 1951a. *Secretory functions of male accessory organs of reproduction in mammals*. Physiol. Rev. 31: 27-55.
- — 1951b. *Fructose formation and seminal phosphatase*. Biochem. J. 48: XVI-XVII.
- MOOG, F. 1946. *The alkaline and acid phosphomonoesterase activity in chick embryos*. J. Cell. and Comp. Physiol. 28: 197-208.
- NEWMAN, W., I. FEIGIN, A. WOLF and E. A. KABAT. 1950. *Histochemical studies on tissue enzymes*. IV. *Distribution of some enzyme systems which liberate phosphatase at pH 9.2 as determined with various substrates and inhibitors; demonstration of three groups of enzymes*. Am. J. Path. 26: 257-306.

- ORTIZ, E., D. PRICE, G. H. WILLIAMS-ASHMAN and J. BANKS. 1956. *The influence of androgen on the male accessory reproductive glands of the guinea pig: studies on growth, histological structure and fructose and citric acid secretion.* Endocrinology 59: 479-492.
- PARR, C. W. and F. L. WARREN. 1951. *Phosphatase activity in fructose-producing tissue.* Biochem. J. 48: XV-XVI.
- PORTER, J. C. and R. M. MELAMPY. 1952. *Effects of testosterone propionate on the seminal vesicle of the rat.* Endocrinology 51: 412-420.
- STAFFORD, R. O., I. N. RUBINSTEIN and R. K. MEYER. 1949. *Effect of testosterone propionate on phosphatases in the seminal vesicle and prostate of the rat.* Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 71: 353-357.
- WILLIAMS-ASHMAN, G. H. and J. BANKS. 1954. *The ketose reductase of rat liver and accessory organs.* Arch. Biochem. Biophys. 50: 513-515.
-

Androgenic effects of autotransplants of adrenals in the accessory reproductive glands of adult castrated rats¹

by

Dorothy PRICE and Dwight J. INGLE

(Department of Zoology and Ben May Laboratory for Cancer Research,
University of Chicago, Illinois)

*In honor of Professor K. PONSE
on her sixtieth birthday*

Evidence from many fields of research points to similarities between certain hormones of the adrenal cortex and the gonads, and to the existence of subtle functional interrelationships between these organs. Adreno-cortical hormones have been shown to have sex hormone-like action on the male and the female reproductive system under a variety of conditions. The effects may be androgenic, estrogenic or progestational. The subject has been ably reviewed by PARKES (1945), PONSE (1950), COURRIER, BACLESSE and MAROIS (1953), MOORE (1953), DELOST (1956) and many others.

In rats, early studies showed that castration of males at birth did not prevent the development of the ventral prostate gland (PRICE, 1936). Later, several workers demonstrated that the adrenals of rats and mice exert stimulating effects on accessory glands—prostate or seminal vesicles—in gonadectomized males (see PRICE, 1947 for a review). Recently, DELOST (1953; 1954; 1956) reported stimulation of the ventral prostate, vas deferens

¹ Supported by the Dr. Wallace C. and Clara A. Abbott Memorial Fund of the University of Chicago, the United States Public Health grants G 2912 and C-2213 (C-3) and by the American Cancer Society as recommended by The Committee on Growth.

and epididymis of the adult castrated field vole by adreno-cortical hormones. In contrast, in the castrated rat the stimulating action of the adrenals has been observed in one gland—the ventral prostate—in young animals under 35 days of age.

A direct approach has been made to the study of the androgenic activity of the adrenal cortex of the rat by transplantation of the adrenal glands directly into the seminal vesicles of castrated or castrated-adrenalectomized hosts (JOST, 1948; KATSH, GORDON and CHARIPPER, 1948; MOORE, 1953; JOST and GELOSO, 1954). This method was designed to detect low levels of androgenic hormone by placing the adrenal in contact with an end organ which might be sensitive to such stimulation. The results that were reported are conflicting. KATSH and his collaborators stated that adrenal cortical grafts in the seminal vesicles of adult rats established an “androgenic field” and prevented to a considerable degree the regressive changes in weight and histological structure in seminal vesicles and prostate glands following castration. The other workers obtained completely negative results or only slight effects.

To clarify the problem we have tested the androgenic activity of adrenals of adult rats by autotransplantation of these glands into the ventral prostates and seminal vesicles of castrated males. The criteria for determining androgenic stimulation were the histological structure and the weights of the accessory reproductive glands after experimental periods of one month or 3 months.

MATERIALS AND METHODS

Adult Sprague-Dawley rats that were $3\frac{1}{2}$ to 4 months of age were divided into two groups. The first group of 9 rats was castrated and at the same time the adrenals of 6 were removed and transplanted as whole glands or as the entire capsule (with glomerulosa and possibly a little fasciculata) between the seminal vesicles and coagulating glands or onto the ventral prostatic lobes. In the second group of 12 rats, all were castrated as before, and in 8 the adrenals were removed and transplanted to the seminal vesicles (one or both whole adrenals were sutured to one seminal vesicle or one adrenal was put in each seminal vesicle) or onto the ventral prostate.

On the day of operation and on the succeeding day all operated rats received 5000 units of penicillin and 5 mg of streptomycin. The adrenalectomized rats with autotransplants were given 1 ml of adrenal cortical extract (Upjohn) on the day of operation and were maintained on 1% saline for one week. The rats were kept in an air-conditioned room at a temperature of 23°-25° C.

The first group was autopsied one month, and the second group, 3 months after operation. In addition, 4 normal males were sacrificed as controls. At autopsy, body weights and organ weights were obtained for all seminal vesicles and ventral prostatic lobes with the adrenals left in the organs in which they had been placed; adrenals were weighed in almost all of the control rats. In 3 cases, marked adhesions developed and bound together the left and right seminal vesicles (\neq 16) or the seminal vesicles and prostatic lobes (\neq 20 and \neq 25). Since the adrenals which had originally been grafted into only one organ had been in close contact with both organs, no separation was made and the organs were weighed together. All of the weighed organs were fixed in Bouin's fluid and sectioned serially for histological study. The data on weights of seminal vesicles + coagulating glands (weighed together) and ventral prostates, and the evidence for stimulation in histological structure in seminal vesicles and ventral prostatic lobes are given in the table. A total of 25 adrenals were autotransplanted into 14 castrated males.

RESULTS

Most of the adrenal grafts were well incorporated in the accessory glands. Many of the grafts, especially in the 3-month experimental group contained normal-appearing cortical tissue in which all zones of the cortex were well developed. The medulla, when left in, degenerated and became necrotic. The grafts were functionally active and maintained the rats in good physical condition.

Weights of the accessory glands.

In order to draw conclusions as to the effects of adrenal grafts on the weights of the accessory organs to which they were transplanted, the probable weights of the adrenal grafts were estimated. A transplanted adrenal in the absence of the second one regenerates a mass of cortical tissue in 5 or 6 weeks that is equal to that of the

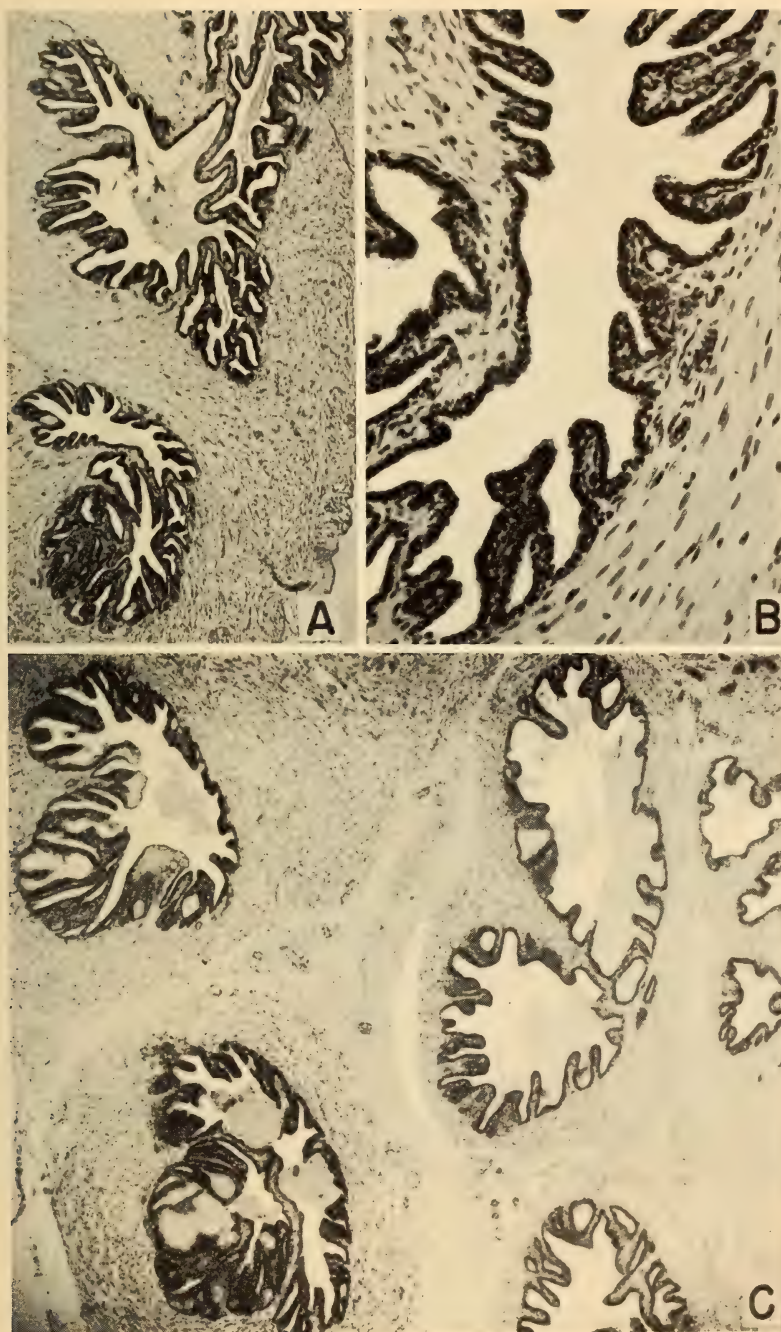
original graft; if an enucleated adrenal (capsule plus glomerulosa) is transplanted, a single regenerating gland is larger than its original mass (INGLE, 1951). A further important factor is that the adrenals of castrated males hypertrophy, so that in the present experiments some regenerating grafts might have exceeded their original weight. The mean weight of one adrenal in the normal control males was 26 mg. An arbitrary value of 30 mg was selected as an estimated maximum weight for a regenerated graft, since this was the mean weight of a single adrenal gland in the controls that were castrated for one month.

There was a marked reduction in the weights of the accessory glands in controls following one month of castration and a further slight reduction after 3 months. If the estimated graft weights are subtracted from the weights of adrenal-implanted seminal vesicles + coagulating glands, the resulting weights are roughly equivalent to those in the appropriate castrated controls with two exceptions ($\neq 13$ and $\neq 17$). One graft was implanted in each case except in $\neq 17$ and $\neq 18$ which had two. A large part of the weight in $\neq 13$ (271 mg) was probably due to an abnormally large adrenal graft with masses of leucocytes. In $\neq 17$, the right seminal vesicle was slightly heavier than might be expected, which may represent some degree of stimulation, especially in view of the histological findings. It must be concluded, therefore, that adrenal grafts did not prevent regression in the combined weight of the seminal vesicles + coagulating glands into which they were implanted, nor did the grafts seem to affect the weights of the opposite seminal vesicle + coagulating gland ($\neq 15$, $\neq 17$, $\neq 18$). The weights of 66 mg and 63 mg in $\neq 17$ and $\neq 18$ are not considered significantly above the castrated controls. Weights of the ventral prostates were not influenced by grafts in the seminal vesicles.

FIG. 1.

- A) Left seminal vesicle of rat $\neq 17$, castrated for 3 months and with two adrenal grafts in the right seminal vesicle. The gland is in a typically regressed state. $\times 50$.
- B) Portion of A) to show the involution of the epithelium. $\times 250$.
- C) Right seminal vesicle of rat $\neq 17$ near an adrenal graft. Note the enlarged acini and secretion. $\times 50$.

FIG. 1



In the ventral prostate, one whole adrenal or one enucleated gland was grafted into each of the two lobes in $\neq 20$, $\neq 21$ and $\neq 22$, and one whole adrenal was placed between the lobes in $\neq 23$; 2 whole adrenals were transplanted together into the prostate in $\neq 19$, $\neq 24$ and $\neq 25$. Four weights indicate possible stimulation (right lobes of $\neq 20$ and $\neq 21$ and the prostates of $\neq 24$ and $\neq 25$). In 3 of these cases, accumulation of leucocytes or infiltration of muscle from adhesions with the body wall was found and might account for the heavier weight. Rat $\neq 24$ was the only clear-cut case of a possible effect from the graft, and histological findings described below support this.

Histological structure.

Castration for one month or 3 months resulted in typical regression in histological structure in the seminal vesicles, coagulating glands and ventral prostates. These changes included reduction in epithelial height, pycnosis of the nuclei, loss of secretion granules in the seminal vesicles, loss of epithelial light areas in the ventral prostate, reduction in acinar size, loss of secretion and an increase in interacinous connective tissue. The regressive changes in the castrate were striking after one month, and some were even more marked after 3 months when almost all of the residual secretion had disappeared. The appearance of the seminal vesicle after 3 months of castration is shown in figure 1A and B; the ventral prostate involution is illustrated in figure 3A and C.

Seminal vesicles. — Adrenal grafts into seminal vesicles for one month had little or no effect upon the histological structure of the accessory gland except in the left seminal vesicle of $\neq 20$, in which the amount of secretion in the ends of the acini appeared greater than in the castrated controls. However, there were no detectable effects on epithelial height. The stimulation in $\neq 20$ was limited to acini that were close to the adrenal graft, while most of the gland was in the typical regressed state. When the grafts were left for 3 months they produced definite stimulation of the seminal vesicles in all 7 adrenal-implanted glands. The degree of stimulation ranged from slightly more secretion in the ends of the acini ($\neq 15$, $\neq 16$), to more general increase in secretion and in acinar size ($\neq 14$, $\neq 18$). In one case (right gland

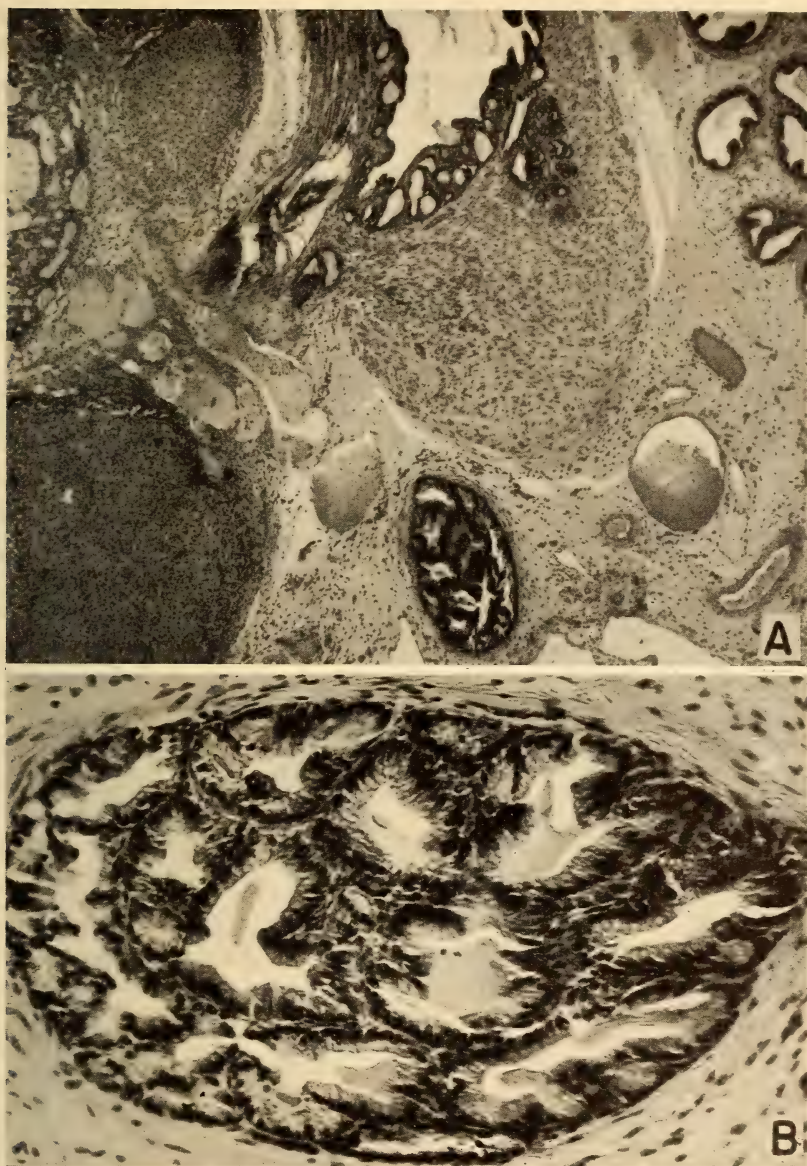


FIG. 2.

- A) Right seminal vesicle of rat \neq 17 at the level of the adrenal graft (lower left). Note the acinus near the graft. $\times 50$.
- B) Portion of A) to show the tall columnar epithelium of the acinus. Secretion granules were present in the cells. $\times 250$.

of $\neq 17$) there was more abundant secretion, larger acini and a few acini with tall columnar epithelium which had secretion granules (fig. 1C, 2A and B). The androgenic effect in all cases, however, was limited to localized regions fairly close to the adrenal grafts, and in these regions not all acini were stimulated. In $\neq 15$, $\neq 17$ and $\neq 18$ the grafts had no effect on the structure of the opposite seminal vesicle (fig. 1A and B) which was indistinguishable from that of a castrated control.

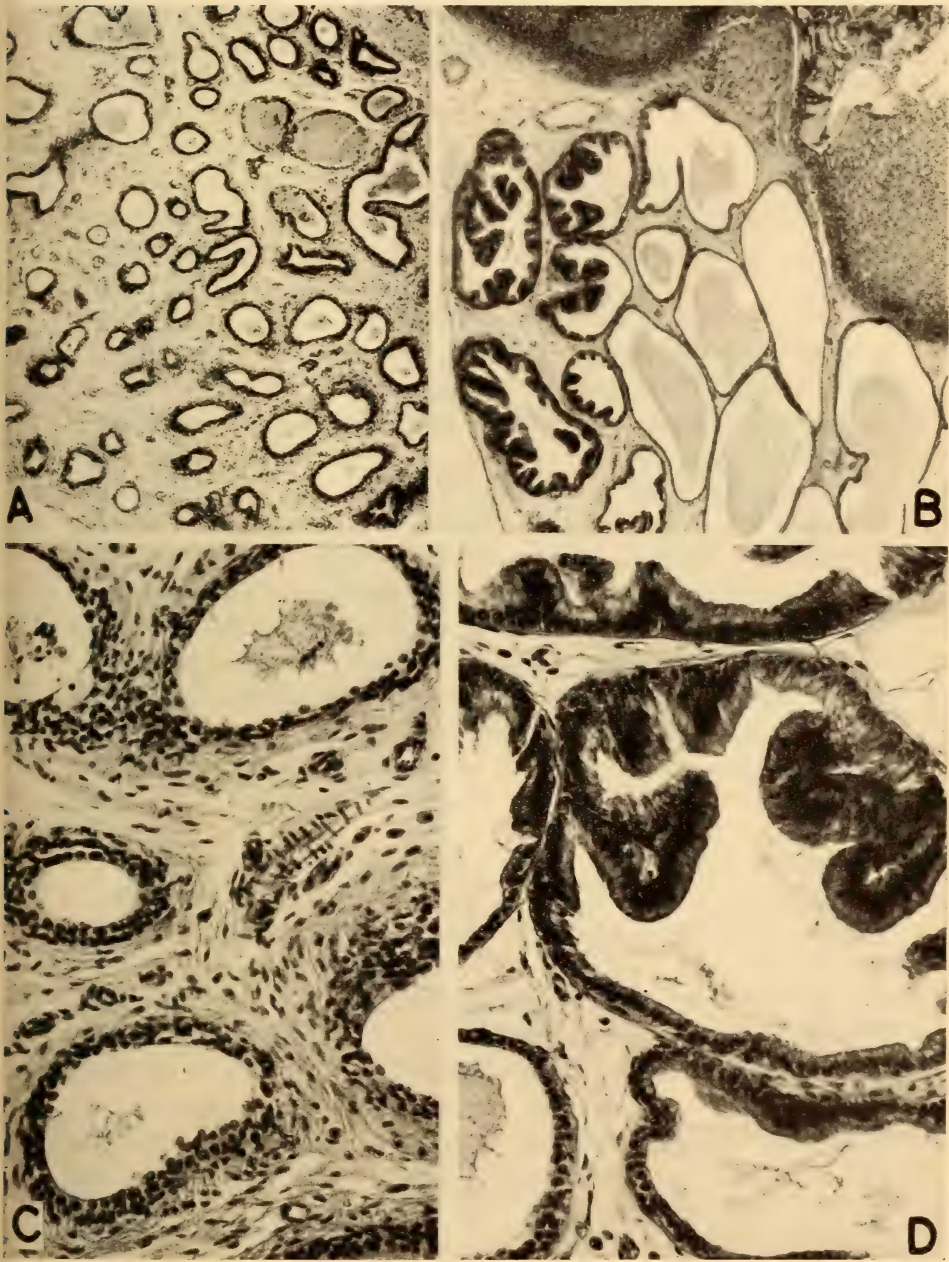
Coagulating glands. — The results can be summarized by stating that there was a localized effect from adrenal grafts close to the acini in most cases in which the seminal vesicle was also stimulated. The effects included an increase in secretion, acinar size and epithelial height. Marked effects were found only after the longer period and were always localized.

Ventral prostate. — When adrenals were transplanted to the ventral prostate for one month, some degree of stimulation was found in 4 out of 7. This stimulation was evident in a slight to moderate increase in epithelial height and enlarged acinar diameter ($\neq 20$, $\neq 21$, $\neq 22$). In all cases only a few acini close to adrenal cortical tissue were affected. After 3 months there was marked stimulation in one of the 3 adrenal-implanted ventral prostates ($\neq 24$). There were many distended prostatic acini with moderate to tall columnar epithelium which had, in some places, epithelial light areas (fig. 3B, D). The stimulation was rather generalized but parts of the prostate at a greater distance from the grafts resembled the gland of a castrated control (fig. 3A, C). The 2 adrenal grafts were deeply incorporated in $\neq 24$ but in the other two cases ($\neq 23$ and $\neq 25$) the grafts did not become closely associated with the prostatic acini and no stimulation occurred. There were no effects from adrenal grafts in the prostates on the structure of the seminal vesicles.

FIG. 3.

- A) Ventral prostate gland of a rat castrated for 3 months. $\times 50$.
- B) Ventral prostate of rat $\neq 24$; castrated and with 2 adrenal grafts in the ventral prostate. Note the adrenal graft (upper right) and the distended prostatic acini with tall epithelium. $\times 50$.
- C) Portion of A) to show the involuted epithelium. $\times 250$.
- D) Portion of B). Note the tall columnar epithelium with light areas in the cells. $\times 250$.

FIG. 3



A comparison of the results on weights and on histological structure as reported in the table, emphasizes the fact that weight is not necessarily a dependable criterion for functional stimulation. In only two cases was a heavier gland associated with histological evidence of stimulation.

DISCUSSION

The technique of testing the androgen-secreting activity of endocrine glands by placing them in close contact with sensitive end organs has been used for the study of secretion by adrenals, fetal testes and ovaries (JOST, 1948; KATSH, GORDON and CHARIPPER, 1948; KATSH, 1950; MOORE, 1953; JOST and GELOSO, 1954; PONSE, 1954; DELOST, 1956). It is a particularly useful method for detecting small amounts of hormone which are effective by local diffusion but might be ineffective via circulatory pathways.

KATSH and his collaborators and JOST and GELOSO studied androgen secretion in the adult rat adrenal in critical experiments i.e. adrenal grafts in the seminal vesicles of castrated-adrenalectomized hosts for 30 days. The former investigators reported that an adrenal cortical graft in one seminal vesicle exerted an androgenic action which was also evident in the opposite seminal vesicle and the ventral prostate. An "androgenic field" with diminishing effects was established. It is not clear whether this implied a gradient of diffusion to the other accessory glands or some preferential distribution of adrenal androgen in the blood stream.

JOST and GELOSO repeated these experiments in part. They did not study weights but on the basis of histology they concluded that any androgenic stimulation from the adrenal graft was barely discernable and very discrete.

The present study (1) confirmed some of the previous reports of androgenic action of adult adrenal cortical grafts in the seminal vesicles for 30 days, (2) demonstrated the sensitivity of adult ventral prostates to adrenal androgens by placing grafts in the prostates and (3) clarified some aspects of the problem by extending the length of the experimental period to 3 months.

The results at 1 month are in agreement with the findings of JOST and GELOSO in that the androgenic action of the grafts was

slight and sharply localized in the organ which contained the graft. The observations of KATSH and his collaborators on maintenance of weights and the establishment of an androgenic field were not confirmed. There is no apparent explanation for this difference in results.

In our experiments, the androgenic effects of the grafts were clearer and more striking after 3 months. Again, however, the effects were limited to changes in histological structure in the gland that contained the graft. Only 2 cases suggested an effect on weights as well.

No attempt was made to correlate the amount of adrenal cortical tissue or its histological character with androgenicity. It appeared that a well-developed cortex with typical zonation was capable of exerting stimulating effects so that androgenicity is not a property of an undifferentiated cortex, a possibility suggested by KATSH.

Recently DELOST (1953; 1954; 1956) reported that in the field vole (*Microtus arvalis* P.) autotransplants of adrenal cortex stimulated the vas deferens locally; similar grafts in the ventral prostate and seminal vesicle were ineffective. He presented interesting evidence to support the concept that cortisone, not an adrenal androgen, is the stimulating hormone from the adrenal cortex in the vole. The adrenal androgen of the rat has not been identified (see COURRIER, BACLESSE and MAROIS, 1953).

SUMMARY

Autotransplants of adrenal glands in seminal vesicles or ventral prostates of castrated adult Sprague-Dawley rats exert a local stimulating effect on histological structure. The androgenic action is weak at 1 month but more marked at 3 months. The significance, if any, of the production of this androgen by the adult adrenal cortex of the castrate is not known.

LITERATURE CITED

- COURRIER, R., M. BACLESSE and M. MAROIS. 1953. *Rapports de la cortico-surrénale et de la sexualité*. J. Physiol. 45: 327-374.
- DELOST, P. 1953. *Sur la fonction sexuelle du cortex surrénal chez le campagnol des champs (Microtus arvalis P.)*. J. Physiol. 45: 100-102.
- 1954. *Action du cortex surrénal sur la prostate du campagnol des champs (Microtus arvalis P.)*. Rôle de la cortisone. J. Physiol. 46: 339-342.
- 1956. *Les corrélations génito-surrénaliennes chez le campagnol des champs (Microtus arvalis P.)*. Ann. des Sc. Nat., Zool. 18: 391-567.
- INGLE, D. J. 1951. *Control of regeneration of the adrenal cortex in the rat*. Symposium on Pituitary-Adrenal Function, AAAS, 1951, The Horn-Shafer Co., Baltimore, pp. 49-55.
- JOST, A. 1948. *Activité androgène du testicule fœtal de rat greffé sur l'adulte castré*. C. R. Soc. Biol. 142: 196-198.
- and J. P. GELOSO. 1954. *Recherche de l'activité androgène de la surrénale par la greffe sur la vésicule séminale de rats castrés*. C. R. Soc. Biol. 148: 474-477.
- KATSH, S., A. S. GORDON and H. A. CHARIPPER. 1948. *The andromimetic action of adrenal cortical transplants to the seminal vesicle of the adult rat*. Anat. Rec. 101: 47-57.
- KATSH, S. 1950. *The androgenic activity of ovarian transplants to the seminal vesicle of the castrated adult male rat*. Endocrin. 47: 370-383.
- MOORE, C. R. 1953. *Adrenal cortical secretions in relation to the reproductive system of rats*. J. Clin. Endocrin. and Metabolism 13: 330-368.
- PARKES, A. S. 1945. *The adrenal-gonad relationship*. Physiol. Rev. 25: 203-254.
- PONSE, K. 1950. *La fonction sexuelle de la cortico-surrénale*. J. Suisse de Méd. 7: 170-180.
- 1954. *Masculinisation paradoxale de rats par des extraits gonadotropes gravidiques en fonction de l'hypophyse et de la surrénale*. Bull. Acad. Suisse Sci. Méd. 10: 1-10.
- PRICE, D. 1936. *Normal development of the prostate and seminal vesicles of the rat with a study of experimental post-natal modifications*. Am. J. Anat. 60: 79-127.
- 1947. *An analysis of the factors influencing growth and development of the mammalian reproductive tract*. Physiol. Zool. 20: 213-247.
-

TABLE

*Effects of autotransplants of adrenals into the accessory reproductive glands of adult castrated male rats*¹

Animal No.	Treatment	Body weight (g)	Weight (mg) of S.V. + C.G.				Weight (mg) of V.P.	
			L (no grafts)	R (no grafts)	L (with grafts)	R (with grafts)	(no grafts)	L R (with grafts)
Controls								
1	Normal control	382	614	649		500		
2		360	633	635		547		
3		356	604	570		411		
4		353	554	547		445		
5	Castrated 1 month	440	69	65		51		
6		398	96	74		64		
7		384	81	83		53		
8	Castrated 3 months	428	48	46		36		
9		418	54	52		40		
10		430	56	55		39		
11		412	55	53		55		
Experimental animals								
12	Adrenal grafts in S.V. for 1 month	405			104 85	46		
13		434			109 271	42		
14	Adrenal grafts in S.V. for 3 months	460			77** 81**	25		
15		440		49	103*	39		
16		416		with L S.V.*	150*	34		
17		463	66			133***	49	
18		426		63	109**		43	
19	Adrenal grafts in V.P. for 1 month	435	66	68			126	
20		474	with L V.P.*	with R V.P.			135** 269	
21		408	75	71			56** 89	
22		418	89	62			57** 62*	
23	Adrenal grafts in V.P. for 3 months	461	41	45			50	
24		475	56	57			150***	
25		337	with V.P.	56			178	

¹ S.V. + C.G. = seminal vesicle + coagulating gland; V.P. = ventral prostate.

* S.V. slightly increased secretion; V.P. slight increase in epithelial height.

** S.V. more abundant secretion; V.P. moderate increase in epithelial height, increase in acinar diameter.

*** S.V. increased secretion, enlarged acini, tall columnar epithelium with secretion granules; V.P. tall columnar epithelium with light areas, increased acinar diameter.

Effect of sex hormones upon hypervitaminosis-A

by

Hans SELYE

Montréal

(Institut de Médecine et de Chirurgie expérimentales,
Université de Montréal, Montréal, Canada)

It has long been known that testosterone can stimulate anabolism and somatic growth [2] and that the catabolic and growth-inhibitory effects of intense overdosage with estradiol can be prevented by testosterone and other testoid compounds [1]. On the other hand, the skeletal lesions induced by lathyrogenic compounds [3] or by an excess of vitamin-A [4, 5] are readily influenced by the somatotrophic hormone and glucocorticoids. In view of these facts, it appeared of interest to establish whether sex hormones could also significantly alter the development of the skeletal changes that are characteristic of hypervitaminosis-A.

MATERIALS AND METHODS

Sixty female Sprague-Dawley rats with an average initial body weight of 100 g (range 95-108 g) were subdivided into six equal groups: *Group I*, untreated controls; *Group II*, vitamin-A; *Group III*, estradiol; *Group IV*, vitamin-A and estradiol; *Group V*, methyltestosterone; *Group VI*, vitamin-A and methyltestosterone.

Vitamin-A was administered in the form of its palmitate in 0.4 ml of sesame oil, by stomach tube. The daily dose level of 20,000 I.U. was given during the first 7 days, the dose being then raised to 30,000 I.U. daily.

Estradiol was injected subcutaneously, in the form of microcrystals, at the daily dose of 250 μ g in 0.2 ml of water.

Methyltestosterone was also given subcutaneously in the form of microcrystals, but at the daily dose of 3 mg in 0.2 ml of water, since preliminary experiments had shown that in order to influence the skeletal manifestations of hypervitaminosis-A, larger doses of testoids than of folliculoids are required.

Throughout the experiment, the rats were fed on "Purina Fox Chow". All animals were killed on the 20th day of treatment. Immediately after autopsy, the lower extremity of the right tibia was fixed and simultaneously decalcified in Susa solution for subsequent histologic study of paraffinembedded sections stained with hematoxylin-eosin. Then, the rest of the skeleton was carefully inspected in each case, special attention being given to the femur (as an example of a typical tubular bone) as well as to the scapula and the mandible, which are particularly predisposed to bone absorption during hypervitaminosis-A. The intensity of bone absorption was assessed in terms of an arbitrary-scale of 0 to ++++, both macroscopically and microscopically.

RESULTS

Our results are summarized in Table 1.

TABLE 1

Group	Treatment	Final body-weight (g.)	Bone absorption
I	None	160 \pm 2.3	0
II	Vit-A	107 \pm 8.1	+ to +++
III	Estradiol	108 \pm 2.3	0
IV	Vit-A + Estradiol	82 \pm 2.4	+++
V	Methyltestosterone	176 \pm 3.1	0
VI	Vit-A + Methyltestosterone	141 \pm 6.0	0

It is obvious from the mean final body weights that both vitamin-A and estradiol, when given alone, failed to inhibit growth completely but reduced the growth rate to a considerable extent. Combined treatment with vitamin-A and estradiol produced an actual loss in body weight, while methyltestosterone, given simultaneously with vitamin-A, counteracted the growth inhibition of the latter.



FIG 1.

Scapula, mandible and femur of a rat treated with vitamin-A alone (left), vitamin-A plus estradiol (middle), and vitamin-A plus methyltestosterone (right). Vitamin-A alone caused some thinning of the scapula (dark gray spot) and absorption of the condyloid and particularly of the coroid process in the mandible. The femur is slightly narrower than normal. This bone absorption is much more pronounced in the animal treated with vitamin-A plus estradiol. Here, there are several actual perforations (black spots) in the scapula and in the mandible. On the other hand, concurrent treatment with methyltestosterone virtually abolished the bone-absorption effect of vitamin-A.

We note, furthermore, that the bone absorption produced by vitamin-A alone (at the dose level at which it was given in these experiments) was only of moderate intensity. However, the skeletal changes caused by the vitamin were considerably accentuated by the concurrent administration of estradiol and inhibited by conjoint treatment with methyltestosterone. These changes are especially obvious in flat bones such as the scapula, or the body of the mandible, but they can also be detected on tubular bones such as the femur (see Fig. 1). Histologic examination of the femora merely confirmed the microscopic findings; the osteoclastic bone absorption characteristic of hypervitaminosis-A is aggravated by estradiol and inhibited by methyltestosterone.

It is obvious from these findings that estradiol can greatly sensitize the skeleton to the characteristic manifestations of hypervitaminosis-A, while methyltestosterone exerts an inverse effect.

SUMMARY

Experiments on albino rats indicate that a moderate excess of vitamin-A, which in itself produces only mild skeletal lesions, results in extraordinarily intense bone absorption if the animals are sensitized to the vitamin by simultaneous treatment with estradiol. On the other hand, the concurrent administration of methyltestosterone counteracts the effect of hypervitaminosis-A upon the skeleton.

At the same time, the anti-anabolic effect of vitamin-A (judged by body weight) is likewise accentuated by estradiol and counteracted by methyltestosterone.

Thus, these observations furnish us with yet another example of a morbid lesion in which a change in the hormonal milieu can abolish, or accentuate, susceptibility to a nonhormonal pathogen.

ACKNOWLEDGEMENTS

These investigations were supported (in part) by the Medical Research Board, Office of the Surgeon General, Department of the Army, Contract No. DA-49-007-MD-186, and by a grant from The Lilly Research Laboratories. The author is also indebted to the Schering Corporation for supplying the methyltestosterone and estradiol, and to Hoffmann-La Roche Limited for contributing the vitamin-A palmitate employed in these investigations.

REFERENCES

1. ALBERT, S. and H. SELYE, H. 1942. *The effect of various pharmacological agents on the morphogenetic actions of estradiol.* J. Pharmacol. and Exper. Therap. 75: 308.
 2. McEUEEN, C. S., SELYE, H. and J. B. COLLIP. 1937. *Effect of testosterone on somatic growth.* Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 36: 390.
 3. SELYE, H. 1957. *Lathyrism.* Rev. canad. de Biol. 16: 1.
 4. — 1957. *Prevention of vitamin-A overdosage by somatotrophic hormone.* J. Endocrinol. in press.
 5. — 1957. *Sensitization of the skeleton to vitamin-A overdosage by cortisol.* J. Am. Rheumat. A., in press.
-



Données récentes sur la virologie de la rougeole et de certains autres exanthèmes

par

Georges H. WERNER

Philadelphie

(Faculté de Médecine de l'université de Pennsylvanie,
Philadelphie, Pennsylvanie)

*En l'honneur du soixantième anniversaire
de M^{lle} Kitty PONSE, professeur à l'Univer-
sité de Genève.*

*En témoignage respectueux d'admiration et
de reconnaissance.*

Juillet 1957.

Un article consacré aux ultra-virus peut sembler déplacé dans ce volume d'une publication zoologique honorant une biologiste et endocrinologiste. Que le lecteur veuille bien le considérer comme un simple témoignage de la diversité des vocations scientifiques que le professeur KITTY PONSE a su éveiller en ses élèves. C'est d'ailleurs du point de vue du biologiste étudiant l'histoire naturelle des maladies infectieuses que nous nous proposons d'aborder la question.

En pathologie infectieuse on entend généralement sous le nom d'exanthème toute maladie d'étiologie bactérienne ou virale dont une des principales et constantes manifestations cliniques est l'apparition d'une éruption cutanée (rash) à localisation généralement bien définie et souvent caractéristique.

Laissant ici de côté les exanthèmes d'étiologie bactérienne (telle que la scarlatine), nous observerons qu'il y a quelque bien-fondé scientifique du point de vue strict du virologiste à étudier

ensemble les exanthèmes à virus, car à la ressemblance clinique de ces affections correspondent très probablement de profondes analogies biologiques entre les ultra-virus qui les causent.

Nous ne ferons pas allusion ici aux exanthèmes qui accompagnent de manière plus ou moins constante certaines maladies à Rickettsies (typhus exanthématique; typhus murin, Rocky Mountain spotted fever, fièvre boutonneuse, etc...) car il existe d'excellentes raisons de ne pas considérer les Rickettsies comme des ultra-virus proprement dits. Nous excluons aussi de notre discussion le virus de la variole et celui de la varicelle, puisque dans ces deux maladies l'éruption cutanée procède au-delà de l'exanthème proprement dit.

Le caractère infectieux de la rougeole, déjà évident pour des raisons épidémiologiques, fut démontré expérimentalement pour la première fois en 1759 par HOME [1] qui appliqua sur la peau scarifiée de sujets humains du coton imbibé de sang de rougeoleux. Mais ce n'est qu'en 1911 que l'étude de cette maladie si répandue entra dans le domaine du laboratoire; lorsque ANDERSON et GOLDBERGER [2] réussirent à transmettre la maladie à des macaques (rhésus ou cynomolgus) qu'ils inoculèrent par les voies intramusculaire, intraveineuse, intrapéritonéale, ou intratrachéale, avec du sang ou des sécrétions nasopharyngées de rougeoleux. Ces auteurs montrèrent que la maladie produite chez le singe était cliniquement très variable et que, parfois, un animal semblait être totalement réfractaire.

En 1938, PLOTZ [3] annonça qu'il avait réussi à cultiver le virus de la rougeole par inoculation de matériel infectieux dans des cultures de tissu embryonnaire de poulet et à reproduire la maladie chez le macaque après plusieurs passages successifs du virus en culture de tissus. En 1939, RAKE et SHAFFER [4] purent cultiver le virus de la rougeole en l'inoculant dans la cavité allantoidienne ou amniotique, ou sur la membrane chorioallantoïdienne de l'embryon du poulet. Ces expériences de culture du virus rougeoleux n'étaient cependant pas entièrement convaincantes à l'époque, car le virus ne causait aucune lésion dans les tissus embryonnaires du poulet, ne provoquait pas la mort de l'embryon, et parce que le seul moyen de démontrer sa présence après un certain nombre de passages en culture était d'inoculer cette culture à des macaques dont la réaction clinique était extrêmement variable.

Ce n'est qu'en 1954 que ENDERS et PEEBLES [5] reprirent la question en utilisant la méthode des cultures cellulaires *in vitro* mise au point par ENDERS et qui lui avait déjà permis en 1949 la mémorable découverte de la culture du virus poliomyélitique. Dans ce type de culture, les cellules prolifèrent sur la paroi de verre du récipient (tube ou flacon) ou sur un substrat adéquat en y formant une nappe monocellulaire qu'on peut observer au microscope avant et après l'addition de matériel virulent. Dans des cultures de cellules rénales provenant d'embryons humains ENDERS et PEEBLES inoculèrent du sang et des sécrétions nasopharyngées de rougeoleux se trouvant à la phase aiguë de la maladie; ils observèrent que le virus, en se multipliant intracellulairement, produisait un effet cytopathogène très caractéristique: apparition de cellules géantes multinucléées formant des syncytia qui envahissent progressivement la nappe épithéliale. Dans ces cellules multinucléées, les noyaux contiennent de larges inclusions éosinophiliques et des masses éosinophiliques apparaissent aussi dans leur cytoplasme. Il semble que le virus se multiplie d'abord intranucléairement et stimule par sa présence des divisions amitotiques en très grand nombre.

De 1954 et 1957, ENDERS et ses collaborateurs ont isolé par la même méthode et en utilisant diverses sources de tissu embryonnaire humain ou des cultures de cellules rénales de singe, neuf sources de virus rougeoleux soit du sang soit du nasopharynx de malades se trouvant à la phase aiguë.

Le virus de la rougeole a été aussi cultivé par divers auteurs dans toute une série de lignées cellulaires dites « stables » provenant de tumeurs malignes humaines: il a causé dans ces cellules essentiellement la même cytopathologie que celle décrite à l'origine par ENDERS. Cependant cet effet cytopathologique peut varier d'aspect au cours de passages successifs en culture de tissus: des cellules fusiformes ou étoilées dont les noyaux contiennent parfois, mais pas toujours, des inclusions éosinophiliques peuvent remplacer les cellules géantes multinucléées typiques.

La relation étiologique entre les virus isolés par ENDERS et la rougeole a été établie avec certitude par une série de tests sérologiques. Quelques jours (de 7 à 10 jours) après l'apparition de l'exanthème morbillieux, des anticorps apparaissent dans le sang des malades qui neutralisent l'effet cytopathogène du virus en

culture de tissus ou encore fixent le complément en présence de l'antigène viral.

ENDERS et ses collaborateurs [6] ont aussi confirmé les observations des anciens auteurs, en montrant que les virus qu'ils isolèrent en culture de virus provoquent, après inoculation par la voie intra-veineuse ou intranasale à des macaques cynomolgus une maladie très semblable à la rougeole des humains. Mais, comme on l'avait déjà observé auparavant, la transmission au singe ne réussit pas toujours et ENDERS a trouvé l'explication de ces résultats aberrants en constatant qu'un certain nombre de macaques, surtout parmi ceux que l'on conserve au laboratoire pendant une certaine période après leur importation d'Afrique ou d'Asie, avaient des anticorps spécifiques contre le virus de la rougeole. En outre, RUCKLE a montré [7] qu'un virus en tout point semblable sérologiquement et par son effet cytopathologique à celui de la rougeole pouvait exister à l'état latent dans les cellules rénales de certains macaques. Ce virus se manifeste lorsque les cellules rénales sont cultivées *in vitro*: au bout de quelques jours ou d'une à deux semaines, les cellules géantes à inclusions intranucléaires font leur apparition et envahissent progressivement la culture. Très probablement les singes importés des jungles asiatiques ou africaines sont rapidement infectés, en général de façon cliniquement inapparente, dès qu'ils arrivent en Europe ou aux Etats-Unis, où la rougeole est endémique dans la population humaine.

Enfin ENDERS et ses collaborateurs ont également confirmé la possibilité de cultiver le virus de la rougeole dans l'œuf de poule embryonné. Inoculant du virus préalablement isolé et cultivé en cultures de tissus dans la cavité amniotique d'œufs embryonnés âgés de 7 à 8 jours et prolongeant l'inoculation pendant 9 jours après l'inoculation, ils ont constaté que le virus s'y multipliait activement et était libéré dans le liquide amniotique, ainsi qu'on peut le démontrer par sub-inoculation de ce liquide en cultures de tissus. Le virus, en se propageant dans l'œuf embryonné, n'y cause aucune lésion et ne provoque pas la mort de l'embryon.

Il existe un autre exanthème, moins fréquent que la rougeole et dont le tableau clinique est beaucoup plus bénin, bien que présentant certaines ressemblances avec celui de la rougeole, et que l'on a nommé le *mégalythème épidémique*, ou encore *érythème infectieux* ou encore: « cinquième maladie ».

Dans cette maladie infectieuse qui survient en général sous la forme de petites épidémies localisées dans des écoles ou des orphelinats et affecte le plus souvent des enfants âgés de 6 à 12 ans, le principal symptôme est un rash morbilliforme très marqué surtout aux joues et sur les membres, sur les cuisses et les fesses, rarement sur le tronc. La fièvre est généralement absente et le bien-être du malade ne semble pas être affecté. Nous décrivons ailleurs par le détail [8] l'histoire, les caractéristiques clinicopathologiques et l'épidémiologie de cette maladie.

Ayant eu l'occasion d'observer en avril 1955 une épidémie de mégalérythème épidémique affectant 67 enfants dans une école primaire de Reading, en Pennsylvanie [9], nous nous sommes efforcés d'isoler le virus responsable en inoculant les sécrétions nasopharyngées et les selles des malades dans des cultures de cellules rénales de singe. Nous avons réussi à isoler de trois malades un ultra-virus qui se multiplie lentement en culture de tissu et y provoque la formation de cellules géantes multinucléées dont les noyaux et le cytoplasme contiennent des inclusions éosinophiles.

Cet effet cytopathologique ressemble de manière frappante à celui du virus de la rougeole. Une année plus tard, au cours d'une autre épidémie de la même maladie, nous avons isolé une autre souche de virus qui semblent en tous points identiques aux premières, en utilisant cette fois des cultures de cellules amniotiques humaines (10). Des réactions de déviation du complément effectuées avec le sérum de plusieurs malades ont montré une nette augmentation du taux des anticorps contre le virus entre la phase aiguë de la maladie et la période de convalescence, ce qui suggère fortement une relation étiologique entre les virus que nous avons isolés et le mégalérythème épidémique. L'inoculation du virus à un macaque rhésus, par voie intranasale, a provoqué un léger érythème de courte durée, après une période d'incubation de deux semaines. Récemment, nous avons constaté que le virus pouvait être absorbé sur des hématies de mouton préalablement sensibilisées par l'acide tannique et que les hématies ainsi traitées étaient agglutinées par les sérums humains contenant des anticorps spécifiques. Cette réaction étant plus simple et peut-être plus sensible que celle de déviation du complément, est susceptible d'application non seulement au mégalérythème épidémique mais aussi à d'autres exanthèmes à virus.

D'autre part, en collaboration avec FRANKEL, nous avons observé que l'on pouvait constater dans le sérum convalescent des enfants atteints de mégalérythème épidémique une légère augmentation du taux des anticorps contre le virus de la rougeole. Si ces résultats préliminaires étaient confirmés sur une plus grande échelle, ils indiqueraient une parenté antigénique entre le virus du mégalérythème épidémique et celui de la rougeole, parenté que suggère déjà la frappante analogie de leurs effets cytopathologiques en cultures de tissus.

On peut d'ailleurs s'attendre à ce que des travaux ultérieurs relèvent d'intéressantes relations de certains ultra-virus du groupe des exanthèmes entre eux et avec d'autres agents. C'est ainsi que IMAGAWA et ADAMS ont montré que des anticorps spécifiques obtenus en immunisant des furets au moyen de la maladie de Carré (maladie du jeune chien) neutralisaient le virus de la rougeole humaine et que l'immunisation de furets par le virus rougeoleux les protégeait contre une infection ultérieure par le virus de la maladie de Carré [11]. D'ailleurs des travaux soviétiques et ceux de FRANKEL et ses collaborateurs [12] ont prouvé qu'il était possible d'infecter expérimentalement le chien nouveau-né par le virus de la rougeole humaine.

Il convient cependant de souligner qu'il peut exister des différences notables entre les ultra-virus causant des exanthèmes cliniquement assez semblables. C'est ainsi qu'au cours d'une épidémie d'un exanthème fébrile d'aspect clinique particulier survenue à Boston en 1951, NEVA et ENDERS [13] ont isolé des selles de malades inoculés en cultures de fibroblastes provenant de tissus embryonnaires humains, un virus qui ne présente aucune analogie avec ceux de la rougeole et du mégalérythème épidémique et par contre s'apparente sérologiquement à certains virus entériques du groupe E.C.H.O. [14]. La maladie telle que NEVA et ses associés [15] l'ont observée, en la dénommant provisoirement: « exanthème de Boston » est pourtant un exanthème fébrile franc dans lequel le rash représente le principal symptôme. Un virus appartenant au groupe sérologique E.C.H.O. a également été isolé à Toronto [16] au cours d'une épidémie de méningite non bactérienne accompagnée, dans la moitié des cas, d'un rash maculopapulaire bien défini. On sait aussi qu'une éruption maculopapulaire est fréquemment observée dans des cas de dengue, maladie causée par un virus

vraisemblablement très différent de ceux que nous avons décrits dans la première partie de cet article.

Enfin, il existe d'autres exanthèmes dont l'étiologie virale, bien que fortement soupçonnée, reste à démontrer. Le plus important d'entre eux est la rubéole. Cette maladie fréquente et bénigne chez l'enfant est cependant de grande importance en raison de l'effet tératogénique sur le fœtus d'une infection de la mère par le virus rubéoleux pendant les premiers mois de la grossesse (embryopathie rubéoleuse de BAMATTER et FRANCESCHETTI). Par inoculation au macaque rhésus, par diverses routes, de sang ou de sécrétions nasopharyngées provenant de maladies sitôt après l'apparition du rash rubéoleux, HABEL [17] a réussi à provoquer une maladie caractérisée par un léger exanthème, une fièvre modérée et une nette leucopénie. Mais KRUGMAN et ses collaborateurs n'ont pas pu confirmer ces résultats en utilisant des macaques de l'espèce *cynomolgus* [18].

En 1954, ANDERSON [19] annonça qu'il avait isolé un ultra-virus par inoculation d'un lavage de gorge de rubéoleux dans des cultures de cellules rénales de singe. Après plusieurs passages négatifs dans ces cultures, un effet cytopathologique se manifesta, caractérisé par la formation de nombreuses cellules géantes multinucléées sans inclusions intranucléaires. A la lumière d'observations plus récentes, il semble qu'il se soit agi là d'une erreur d'interprétation. Il existe en effet à l'état latent dans les cellules rénales de certains singes un virus (dénommé « virus spumeux ») qui se manifeste parfois tardivement dans les cultures cellulaires par l'apparition de cellules géantes multinucléées à cytoplasme vacuolisé, sans inclusions intranucléaires. L'existence de ce virus était inconnue à l'époque des travaux d'ANDERSON, mais depuis lors tous les laboratoires de virologie ont eu l'occasion d'observer ce virus dans certaines de leurs cultures de cellules rénales de singe. Il semble donc bien établi que le virus isolé par ANDERSON provenait non pas du malade mais des cultures elles-mêmes.

Récemment après deux passages en cultures de cellules amniotiques humaines d'un lavage de gorge d'un garçon de 8 ans atteint de rubéole, nous avons isolé un virus qui provoqua la destruction rapide et complète des cellules, d'une manière analogue à celle des adénovirus [14]. Ce virus n'était cependant pas neutralisable par les antisérums spécifiques anti-adénovirus dont nous disposions (types 1

à 7). Une contamination bactérienne de nos cultures nous a malheureusement fait perdre ce virus et nous ne saurons jamais quelle était sa relation étiologique avec la rubéole. Cependant ce résultat nous encouragera dans l'avenir à tenter l'isolement du virus rubéoleux par passages répétés de sécrétions nasopharyngées de malades en cultures de cellules amniotiques humaines.

D'autres exanthèmes (exanthem subitum ou roséole des bébés; quatrième maladie ou maladie de Dukes; troisième maladie ou maladie de Guthrie et Pessel) présentent encore un mystère complet pour le laboratoire de virologie. On peut cependant espérer que l'application intensive des méthodes de cultures cellulaires *in vitro* à l'étude de ces problèmes ne tardera pas à conduire à l'isolement de nouveaux virus et que l'étude expérimentale des exanthèmes entrera définitivement dans le domaine du virologiste.

BIBLIOGRAPHIE

1. HOME, F. 1759. *Medical Facts and Experiments*. A. Millar éd. Londres, p. 253.
2. ANDERSON, J. F. et J. GOLDBERGER, 1911. *Pub. Health Rep.* 26: 847.
3. PLOTZ, H. 1938. *Bull. Acad. Méd. (Paris)*, 119: 598.
4. RAKE, G. et M. F. SHAFFER. 1939. *Nature (London)*, 144: 672.
5. ENDERS, J. F. et T. C. PEEBLES. 1954. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Méd.* 86: 277.
6. ENDERS, J. F., T. C. PEEBLES, K. MC CARTHY, M. MILOVANOVIC, A. MITUS et A. HOLLOWAY. 1957. *Amer. J. Publ. Health*, 47: 275.
7. RUCKLE, G. 1956. *Federation Proceedings*, 15: 610.
8. WERNER, G. H. *Klinische Wochenschrift (Heidelberg)*, sous presse.
9. WERNER, G. H., P. S. BRACHMAN, A. KETLER, J. SCULLY et G. RAKE. 1957. *Annals N.Y. Acad. Sci.* 67: 338.
10. Pour les détails de notre méthode de préparation de cultures de cellules amniotiques humaines, voir: KETLER, A. et G. H. WERNER. *Médecine et hygiène (Genève)*. 1957. 15: 299.
11. IMAGAWA, D. T. et J. M. ADAMS. 1957. *Federation Proceedings*, 16: 360.
12. FRANKEL, J. W., T. BURNSTEIN, J. T. DEVINEY et M. K. WEST. 1957. *Bacter. Proceed.* 57: 76.
13. NEVA, F. A. et J. F. ENDERS. 1954. *J. Immunol.* 72: 307.
14. Pour une discussion des virus E.C.H.O. et des Adénovirus, voir: WERNER, G. H. 1956. *Presse médicale*, 81: 1859.

15. NEVA, F. A., R. F. FEEMSTER et I. J. GORBACH. 1954. J. Am. Med. Assoc. 155: 544.
 16. RHOADS et SULTANIAN (Toronto): communication orale.
 17. HABEL, K. 1942. Publ. Health Rep. 57: 1126.
 18. KRUGMAN, S., R. WARD, K. G. JACOBS et N. LAZAR. 1953. J. Am. Med. Assoc. 151: 285.
 19. ANDERSON, S. G. 27 novembre 1954. Lancet (London) p. 1107
-

Contribution à l'étude de la surrénalectomie du cobaye

par

**E. CHAROLLAIS, O. LIBERT, M. PERRET et
D. ROSENBUSCH-WEIHS**

Travail effectué à la Station de Zoologie expérimentale de l'Université
de Genève, sous la direction de M^{lle} Kitty Ponse,
Professeur à la Faculté des Sciences ¹.

En confirmation du travail préliminaire de TAILLARD et VEYRAT (1947), dans le laboratoire du professeur E. GUYÉNOT, M^{lle} PONSE a montré (1955), sur un nombre suffisant d'animaux, et sans traitement substitutif hormonal, que la surrénale n'est pas indispensable pour viriliser les femelles de Rat par les chorio-gonadotropines et que l'hypophyse l'est encore moins.

C'est pour confirmer ces résultats sur le Cobaye que M^{lle} PONSE nous a demandé d'étudier les conditions de la surrénalectomie chez cet animal. Nous sommes heureux de lui dédier ces essais préliminaires à l'occasion de son soixantième anniversaire.

D. HODLER a, pour la première fois, à notre connaissance, réalisé, dans le laboratoire du professeur E. GUYÉNOT, la surrénalectomie du Cobaye (1937). Puis, SCHACHTER et BEBEE (1939) décrivent la technique de base, modifiée ensuite par divers auteurs: ROBINSON (1941), BRUZZONE et coll. (1946), KAHLSON et coll. (1953), MORRISON (1954), GOOD et coll. (1956). Dans la plupart des cas, l'opération était faite en vue de tester des substances à activité corticale, et le temps de survie après l'opération a servi

¹ Avec l'aide financière du Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique.

le plus souvent de base à cette étude. La survie moyenne obtenue par les différents auteurs est de 4 à 6 jours sans traitement spécial. Cette survie est trop courte pour permettre l'action virilisante (K. PONSE et D. ROSENBUSCH-WEIHS: traitement de 21 jours): le but de cette étude préliminaire était donc de trouver une méthode permettant une survie prolongée et ne risquant pas de compromettre les résultats des dosages des différentes fractions métaboliques (glycuro-conjugués et 17-cétostéroïdes) que nous nous proposons de mesurer pour connaître leurs variations après surrénalectomie.

Matériel et méthodes.

Nous avons opéré en tout 28 Cobayes: 9 mâles; 14 femelles entières; 5 femelles castrées.

Le poids des animaux à la première opération a varié ainsi:

mâles	de 230 à 400 g (moyenne = 320 g)
femelles entières . .	de 360 à 580 g (moyenne = 466 g)
femelles castrées . .	de 290 à 515 g (moyenne = 410 g)

La période comprise entre les 2 opérations a varié de 21 à 41 jours, sauf dans 1 cas où il a atteint 130 jours. Au moment de la deuxième opération les poids étaient devenus:

mâles	de 405 à 565 g (moyenne = 470 g)
femelles entières . .	de 450 à 660 g (moyenne = 546 g)
femelles castrées . .	de 425 à 665 g (moyenne = 535 g)

Quatre mâles non opérés ont servi de témoins pour les dosages de 17-cétostéroïdes.

Technique opératoire.

Les animaux sont mis à jeun pendant 4 à 5 heures avant l'opération. Ils sont anesthésiés à l'éther. Nous avons le plus souvent opéré d'abord le côté droit des animaux. Cependant, dans 2 cas (femelles castrées), les surrénales gauches ont été prélevées en premier lieu, ce qui semble intéressant pour l'étude de l'hyper-trophie compensatrice de la surrénale restée en place, comme nous le verrons plus loin.

Ablation de la surrénale droite.

L'animal est rasé sur tout le flanc droit, dorsalement jusqu'à la colonne vertébrale. On pratique ensuite l'ouverture cutanée sur l'avant-dernière côte flottante, sur une longueur de 4 cm environ, à partir de la musculature dorsale. L'ouverture musculaire est alors effectuée exactement sur la côte repérée: on dissèque la côte en coupant le premier plan musculaire, tout en maintenant en place le péritoine. On coupe la côte le plus dorsalement possible, en écrasant le moignon avec une pince hémostatique. On ouvre alors le péritoine, en introduisant à mesure dans l'abdomen un paquet de coton entouré de gaze et trempé dans du Bradosol, de façon à repousser l'intestin en bas à droite et le foie en haut. A partir de ce moment, le rein et la surrénale sont parfaitement isolés des autres organes et ne sont jamais touchés avec des instruments mais uniquement avec des allumettes garnies de coton et humectée de Bradosol, grâce auxquelles l'opérateur et son aide repoussent le rein et la surrénale pour bien dégager le champ de vision.

L'opérateur détache alors la surrénale du rein, sur le devant, en dilacérant d'abord à la pince fine la graisse comprise entre les 2 organes, puis en déchirant avec l'allumette entourée de coton les toiles conjonctives qui retiennent la surrénale au muscle dorsal, au diaphragme et au foie. On atteint ainsi, en allant de proche en proche dans le sens des aiguilles d'une montre, la veine surrénalienne, qui est très courte et devra être coupée, autant que possible en dernier lieu. On dégage la surrénale de la veine cave, avec un petit crochet coupant, en dilacérant, par fractions de millimètre, le tissu conjonctif commun aux deux organes. Il faut absolument éviter de blesser la surrénale, ce qui entraîne à coup sûr des régénérats. On opère la suture en deux plans.

Ablation de la surrénale gauche.

L'opération est identique (y compris l'ablation de la côte), mais la glande n'est pas fixée sur la veine cave et la veine surrénalienne est en général assez longue pour pouvoir être pincée. Il est nécessaire d'éviter toute hémorragie importante et d'opérer vite, les animaux supportant beaucoup moins bien l'anesthésie et les hémorragies à la deuxième opération.

Nourriture des animaux et soins post-opératoires.

Les animaux sont nourris, dès la première opération, avec du son salé (10% de NaCl) et vitaminé (2 g d'acide ascorbique par kg de son). On ajoute à cette nourriture, suivant la saison, de l'herbe fraîche ou des betteraves et du foin.

Dès la deuxième opération, on pratique une injection sous-cutanée par jour de sérum physiologique (2 cc) et de glucose (1 cc à 10%). Trois femelles ont été de plus traitées par la cortisone à la dose de 2 mg par jour (KAHLSON et coll.: 2,5 mg par jour); 3 femelles et 2 mâles ont reçu 10 gammas par jour d'aldostérone; ¹ quatre femelles ont été traitées par 40 UI de gonadotropines chorioniques par jour ².

*Résultats biologiques.**Survie.*

Sur les 9 mâles, 8 ont survécu à la première opération, 6 à la seconde. Sur les 14 femelles, 10 ont survécu à la première opération, 9 à la seconde. Toutes les femelles castrées ont survécu à la deuxième opération. Sur les 20 animaux ayant survécu à la deuxième opération, 4 ont présenté des surrénales accessoires ou des reliquats.

Le temps de survie des animaux opérés totalement et non traités est de 2 à 13 jours (moyenne = 7 jours). Deux femelles n'ont subi qu'un traitement gonadotrope, sans traitement substitutif surrénalien; elles ont survécu légèrement plus longtemps que la moyenne des non traités (9 jours et 11 jours). Mais ce temps de survie n'était pas assez long pour permettre le traitement gonadotrope complet.

La cortisone (2 mg par jour) permet une bonne survie, les animaux ayant été chloroformés 21, 24 et 28 jours après la première opération.

Avec l'aldostérone (10 gammas par jour), 2 animaux sont morts dans les limites de survie des non traités; les 3 autres ont survécu aussi longtemps qu'avec la cortisone.

¹ Nous remercions vivement M^{lle} L. Huis in't Veld, d'Amsterdam, qui a bien voulu mettre à notre disposition l'aldostérone qui lui avait été fournie par la maison Ciba, de Bâle.

² Nous remercions également le représentant de la maison Léo à Bâle (Serumwerk), qui nous a fourni gracieusement tout le Physex nécessaire à nos expériences.

Courbes de poids.

La chute de poids est immédiate et impressionnante lorsque la surrenalectomie est totale. L'animal recommence au contraire à prendre normalement du poids au bout de quelques jours lors de la présence de reliquats ou de surrénales accessoires (ex.: P 27, fig. 1). Dans le cas du traitement gonadotrope sans corticostéroïdes (P 52, fig. 1), la chute de poids est moins régulière que sans aucun traitement (ex.: mâle 1, fig. 1).

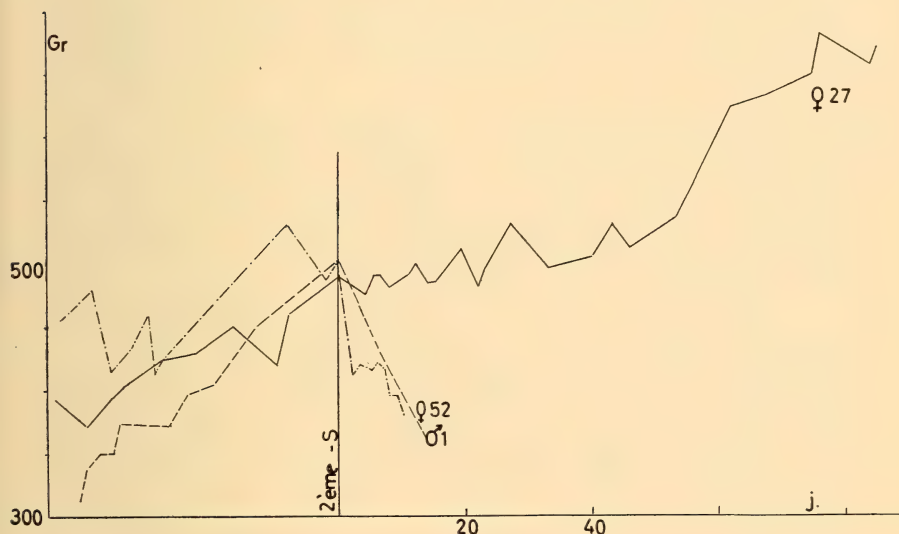


FIG. 1

Comparaison entre les courbes de poids de 3 Cobayes surrenalectomisés.

P 27 = surrénales accessoires

♂ 1 = surrenalectomie totale sans traitement

P 52 = surrenalectomie totale sans traitement cortical, mais avec traitement gonadotrope.

Seule, l'aldostérone est capable d'éviter la chute de poids consécutive à la surrenalectomie totale (ex.: mâle 8, fig. 2). Avec la cortisone, au contraire, si le temps de survie est également prolongé, la chute de poids continue cependant sans interruption jusqu'à ce que l'animal soit sacrifié (P 64). Cette chute est nettement freinée si l'animal subit un traitement gonadotrope en plus de la cortisone (P 68, fig. 2).

Hypertrophie compensatrice.

Pour évaluer la différence normale entre les 2 surrénales, nous avons fait le calcul suivant: en donnant la valeur 100 au poids de la surrénale droite, la moyenne calculée pour 8 cobayes non surrénalectomisés est de 128 ± 12 pour la surrénale gauche. Ce chiffre devient 215 pour 8 jeunes mâles surrénalectomisés et 163 pour 12 femelles un peu plus âgées.



FIG. 2

Comparaison entre les courbes de poids de 3 Cobayes surrénalectomisés puis traités:

- ♂ 8 par l'aldostérone
- P 64 par la cortisone
- P 68 par cortisone + Physex

Dans les deux cas où la surrénalectomie gauche a été faite la première, le poids absolu des surrénales droites prélevées à la deuxième opération est plus du double de celui des surrénales droites d'animaux de même âge (293 mg contre 141 mg).

Virilisation.

Pour l'étude de la virilisation par 40 UI de Physex par jour, nous avons observé 9 femelles surrénalectomisées, en 3 groupes:

- a) 3 femelles sans traitement cortical;
- b) 3 femelles traitées par la cortisone (2 mg par jour);
- c) 3 femelles traitées par l'aldostérone (10 gammas par jour).

Dans chaque groupe, l'une des femelles servait de témoin, les 2 autres recevaient le traitement gonadotrope. Les témoins n'ont jamais présenté de virilisation.

a) Des 2 femelles traitées au Physex, sans traitement cortical, l'une seulement (P 52) a survécu suffisamment pour que l'on ait pu observer un début de virilisation, commençant à la 8^e injection et encore faible au moment de la mort de l'animal, après la 11^e injection.

b) Des 3 femelles traitées à la cortisone, le témoin (P 64) n'a présenté aucun signe de virilisation après 24 injections de cortisone (dose totale = 48 mg). Les 2 femelles traitées au Physex, au contraire, ont présenté une virilisation très forte et très précoce (P 68, après la 4^e injection; P 69, après la 6^e injection), le traitement ayant pu être prolongé 20 jours dans les deux cas.

c) Il en est à peu près de même pour les femelles traitées à l'aldostérone. Cependant, l'une seulement des 2 femelles ayant reçu du Physex a survécu assez longtemps pour recevoir les 20 injections (P 109). Elle a présenté une forte masculinisation, apparaissant après la 8^e injection. Le témoin (P 89) n'a présenté aucune virilisation.

Résultats biochimiques.

GBS.

Nous avons groupé dans un graphique (fig. 3) les résultats des mesures faites avec notre méthode (1955, 1957), chez les femelles, avant et après la seconde surrénalectomie. La première mesure a été effectuée, soit après castration, soit au minimum du cycle chez les femelles entières. La seconde mesure correspond à un temps de survie de 2 à 5 jours après la 2^e opération.

On observe toujours une chute importante de ces métabolites urinaires après la surrénalectomie totale, chute allant de 36% à 65% du taux initial. Cette chute correspond donc à l'élimination

des stéroïdes surrénaliens. Cependant, le taux observé après surrénalectomie n'est pas nul, même chez les castrées, ce qui indiquerait la présence, dans la fraction des glycuco-conjugués urinaires mesurés par notre méthode, de substances non dérivées des stéroïdes. Mais il faut noter que les femelles castrées observées avaient été nourries avec l'aliment spécial du Moulin de la Pallanterie, et présentaient de ce fait une élimination particulièrement élevée des GBS (K. PONSE et D. ROSENBUSCH, 1957).

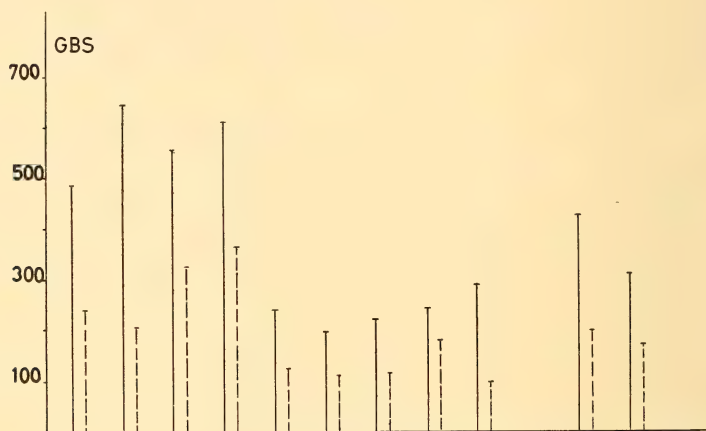


FIG. 3

Elimination des GBS avant et après surrénalectomie totale.

Trait plein: avant la 2^e opération; trait pointillé: 2 à 5 jours après la 2^e opération.

Le rapport défini précédemment (1955, 1957) tombe très bas après surrénalectomie totale, plus bas encore qu'après hypophysectomie, puisque la moyenne des rapports minima observés après des temps variant de 3 à 26 jours est de 0,26 (7 femelles) en l'absence de traitement gonadotrope. (Phase lutéinique = 2,19; phase folliculaire = 0,77; minimum après hypophysectomie = 0,38 en moyenne).

Dosage des 17-cétostéroïdes neutres (17 CS).

A. *Méthode.* — Nous avons utilisé les techniques de fractionnement et de dosage précédemment décrites (CHAROLLAIS 1955,

CHAROLLAIS, PONSE et JAYLE 1957). De plus, nous avons effectué la chromatographie sur papier selon le système de SAVARD (1953). Le papier à chromatographier (Whatman n° 1) est imprégné de propylène-glycol (propylèneglycol: méthanol 1: 1); la phase mobile est constituée par de l'éther de pétrole (P.E. = 80-110°). Les chromatogrammes sont révélés par immersion dans de la potasse alcoolique (3 N dans l'éthanol) puis dans du métadinitrobenzène (2% dans l'éthanol).

Les résultats que nous fournissons ici sont partiels; nous ne pouvons pas en présenter le détail sans craindre de fâcheuses erreurs d'interprétation. Nos observations ne sont pas encore assez nombreuses. Il est à noter que les résultats obtenus par un dosage global ne correspondent pas toujours aux valeurs observées sur les chromatogrammes. Lorsqu'il y a surestimation par un dosage global, on observe souvent une mauvaise interprétation des taches, l'estimation en étant malaisée. Toutefois, ces divergences ne sont pas toujours bien explicables et il est souvent difficile de les interpréter.

B. *Résultats.* — Chez le mâle normal, pesant de 300 à 550 g, l'élimination des 17 CS est assez variable: ces animaux sont en pleine croissance, en plein développement endocrinien. Cependant, on peut fixer les normes entre 100 et 200 gammas par 24 heures (ce dernier taux pouvant quelquefois être dépassé chez un animal particulièrement précoce). Ce même taux se retrouve 3 ou 4 semaines après l'ablation de la surrénale droite, la gauche étant devenue plus active. C'est précisément juste avant la seconde surrénalectomie que nous avons effectué les premiers dosages sur les animaux présentés ici.

Chez la femelle normale, à part une élimination cyclique des 17 CS urinaires (CHAROLLAIS, PONSE, JAYLE 1957), avec un maximum au moment du rut, nous observons un taux global moyen assez comparable à celui des mâles.

Si nous examinons maintenant la composition de la fraction A (ou A et B réunies, soit AB) des 17 CS, au point de vue qualitatif, nous constatons que, chez l'animal normal, mâle ou femelle, nous trouvons essentiellement des 11 oxy-17-cétostéroïdes, à savoir, dans l'ordre observé sur les chromatogrammes:

11 oxy-étiocholane 3 α 0l,17 one (11 OHE)	$R_t^1 = 0,02-0,03$
11 oxy-androstane 3 α 0l,17 one (11 OHA)	$R_t = 0,05-0,06$
11 céto-étiocholane 3 α 0l,17 one (11 COE)	$R_t = 0,09-0,12$
11 céto-androstane 3 α 0l,17 one (11 COA)	$R_t = 0,15-0,18$

On peut dire qu'approximativement la somme (11 OHE + 11 COE) constitue le 60 à 80% de la totalité des 17 CS éliminés, tandis que les 20 à 40% restant, au maximum, reviennent à la somme (11 OHA + 11 COA).

Nous négligeons volontairement une série de taches Zimmermann positives, dont la coloration n'est pas typiquement celle des 17 CS et dont nous ne connaissons pas encore la signification. Ces taches existent aussi bien chez le normal que chez le surrénalectomisé mâle ou femelle.

A l'aide des résultats précédents, nous pouvons tirer les conclusions suivantes:

- 1^o Disparition totale des 17 CS, typiquement Zimmermann positifs, après surrénalectomie (tableau 1).

TABLEAU 1

Cobayes mâles surrénalectomisés sans traitement.

Cobaye:	♂ 1				♂ 9		♂ 10			♂ 11		
Date:	10 VIII	18 VIII	21 VIII	23 VIII	4 VI	12 VI	29 V	26 VI	28 VI	28 V	28 VI	3 VII
Fraction A $\gamma/24$ h.												
Totale	186	44	32	33	122	20	107	—	—	138	150	—
11 OHE	15	0	0	0	50	0	45	0	0	35	—	0
11 OHA	0	0	0	0	20	0	20	0	0	25	—	0
11 COE	15	0	0	0	20	0	35	0	0	35	—	0
11 COA	0	0	0	0	10	0	10	0	0	10	—	0

Les dates de la seconde surrénalectomie sont les suivantes:

♂ 1: 14.VIII, ♂ 9: 7.VI, ♂ 10: 24.VI, ♂ 11: 1.VII.

Les résultats antérieurs correspondent à ceux d'un animal avec une ou deux surrénals.

¹ Les R_t sont déterminés par rapport à l'androstérone.

- 2° Persistance d'une faible quantité de 11 oxy-17 CS urinaires (spécialement 11 OHE) chez l'animal présentant un reliquat surrénalien (mâle 4, tableau 2).

TABLEAU 2

Cobaye mâle surrénalectomisé avec reliquat surrénalien (♂ 4).

Date:	11.VIII	22.VIII	28.VIII	5.IX
Fraction AB $\gamma/24$ h.				
Totale	108	56	41	58
11 OHE	15	0	10	15
11 OHA	0	0	0	0
11 COE	10	0	0	0
11 COA	10	0	0	0

Seconde surrénalectomie le 16.VIII.

- 3° L'aldostérone, à raison de 10 gammas par 24 heures, ne fournit ni ne provoque la formation de 17 CS urinaires après surrénalectomie (mâle 8, femelle P 89, tableau 3).

TABLEAU 3

Cobayes surrénalectomisés traités à l'aldostérone (10 $\gamma/24$ h.)

♂ 8, ♀ P 89.

Cobaye ♂ 8.

Date:	1.VI	6.VI	8.VI	15.VI	22.VI	29.VI	6.VII
Fraction AB $\gamma/24$ h.							
Totale	264	26	19	—	—	—	—
11 OHE	125	0	0	0	0	traces	0
11 OHA	60	traces	0	0	0	0	0
11 COE	60	0	0	0	0	0	0
11 COA	20	0	0	0	0	0	0

Seconde surrénalectomie le 4.VI.

Cobaye ♀ P 89.

Date:	23.V	6.VI	18.VI	25.VI	2.VII	7.VII	16.VII	23.VII
Fraction A $\gamma/24$ h.								
Totale . . .	248	191	—	—	—	—	—	—
11 OHE . .	—	130	0	0	0	0	0	0
11 OHA . .	—	0	0	0	0	0	0	0
11 COE . .	—	25	0	0	0	0	0	0
11 COA . .	—	25 ?	0	0	0	0	0	0

Seconde surrénalectomie le 14.VI.

4° La cortisone, au contraire, à raison de 2 mg par jour, se métabolise en partie en 11 oxy-17 CS chez le Cobaye surrénalectomisé. L'élimination journalière peut atteindre le 20% de la dose injectée. Il s'agit essentiellement de 11 OHE et de 11 COE. Les androstérones oxygénées en 11 sont en quantités extrêmement faibles (femelle P 64, tableau 4).

TABLEAU 4

Cobaye femelle surrénalectomisée traitée à la cortisone (2 mg./24 h.)
♀ P 64.

Date:	2.III	9.III	13.III	20.III	23.III	2.IV
Fraction A $\gamma/24$ h.						
Totale	91	72	259	274	451	314
11 OHE	45	95	135	—	300	160
11 OHA	20	0	0	—	20	15
11 COE	45	45	90	—	90	90
11 COA	20	25	45	—	45	30

Discussion et conclusions.

La survie du Cobaye après surrénalectomie n'étant pas assurée comme chez le Rat par un simple apport de sel à la nourriture, les différents auteurs ont cherché à y remédier, soit par un régime

tout à fait spécial (CLARK 1941), soit par un traitement substitutif: D. HODLER (1937), NELSON (1937), SCHACHTER et BEBEE (1939) utilisaient des extraits corticaux bruts, qui prolongeaient la vie des animaux de 3 à 12 jours au maximum. Puis, l'administration de DOCA en injections (ROBINSON 1941, CLARK 1941, MEITES et coll. 1942, CLAYTON et coll. 1953) ou en « pellets » sous-cutanés (BRUZZONE et coll. 1946), a permis une survie de plusieurs semaines. La prégnénolone est moins active (BRUZZONE et LOPEZ 1948). Ces deux hormones étaient inutilisables pour nos expériences, leurs métabolites interférant vraisemblablement avec les 17 CS et les GBS que nous voulions doser dans les urines des animaux traités. C'est pourquoi il nous semblait particulièrement intéressant d'employer l'aldostérone, dont la très forte activité permet la survie à des doses si faibles qu'elles ne risquent pas de gêner les résultats biochimiques. Cependant, les troubles secondaires observés chez les animaux surrénalectomisés non traités (ulcérations gastriques et paralysie de l'arrière-train), subsistent chez nos opérés traités par 10 gammas par jour d'aldostérone, malgré le maintien du poids en plateau. Par ailleurs, les résultats des dosages de 17 CS confirment pleinement l'idée que ces métabolites ne sont pas augmentés par l'aldostérone injectée. Il en est de même pour les GBS, qui sont toujours fortement diminués après surrénalectomie.

Au contraire, les expériences avec la cortisone (2 mg par jour), qui, par ailleurs fait disparaître les troubles musculaires et les ulcérations, nous ont montré que cette hormone est fortement métabolisée en 17 CS urinaires, chez le Cobaye. L'analyse chromatographique permet de déceler la présence de 11 OH-étiocholanolone et de 11 CO-étiocholanolone comme métabolites de la cortisone; ces métabolites représentent le 60 à 80% de la totalité des 17 CS éliminés par le Cobaye normal, mâle ou femelle. Ainsi, certains des 17 CS existant normalement dans l'urine de Cobaye peuvent provenir du métabolisme de la cortisone. A notre connaissance, seuls CLAYTON et coll. (1953) avaient dosé les 17 CS urinaires chez le Cobaye surrénalectomisé (traitement par DOCA et régime carencé en vitamine C). Ces auteurs avaient noté que l'augmentation des 17 CS consécutive à un stress ne peut plus se faire après surrénalectomie totale, mais seulement en présence d'un reliquat. Ces résultats sont intéressants à comparer avec les nôtres,

en ce qu'ils mettent l'accent sur l'importance de la surrénale comme source des 17 CS chez le Cobaye.

Il nous semble, d'après les résultats préliminaires de cette étude, que la meilleure méthode pour maintenir en vie les Cobayes surrénalectomisés pendant 3 semaines au moins, en vue du traitement gonadotrope virilisant, serait d'administrer aux animaux, simultanément, les 2 hormones, aldostérone et cortisone, et celles-ci à des doses beaucoup plus faibles (20-40 γ par jour).

Dans 3 cas où nous avons pu maintenir en vie nos Cobayes surrénalectomisés suffisamment pour leur appliquer le traitement gonadotrope complet, nous avons obtenu une virilisation forte et précoce, en l'absence totale de tissu surrénalien, ce qui confirme les résultats de TAILLARD et VEYRAT et de K. PONSE sur le Rat, tout en ayant la possibilité d'analyser, par la méthode chromatographique, les métabolites urinaires. Ces résultats sont particulièrement intéressants quand on songe à l'énorme développement des surrénales chez le Cobaye et au rôle considérable que ces glandes paraissent assurer chez cet animal.

AUTEURS CITÉS

- BRUZZONE, S., H. BOREL et J. SCHWARZ. 1946. *The effect of steroids related to the cortical hormones and of stilbestrol on the adrenalectomized Guinea-Pig*. Endocr. 39: 194-202.
- et H. LOPEZ. 1948. *Comparative cortical action of different pregnenolones in the adrenalectomized Guinea-Pig*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 68: 578-579.
- CHAROLLAIS, E. J. 1955. *Contribution à l'étude de la réaction de Zimmermann en vue du microdosage des 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine*. Bull. Soc. Chim. Biol. 37: 299-305.
- K. PONSE et M. F. JAYLE. 1957. *Méthode de dosage des 17-cétostéroïdes dans l'urine de Cobaye*. Application au cycle oestral. Ann. Endocr. 18: 109-119.
- CLAYTON, B. E. et F. T. G. PRUNTY. 1953. *The relation of adrenocortical function to scurvy in guinea-pigs. The effect of exogenous ACTH and adrenalectomy*. J. Endocr. 9: 370-378.
- CLARK, W. G. 1944. *Maintenance of adrenalectomized guinea-pigs*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 46: 253-257.
- GOOD, Th. A., R. S. ELY, L. R. HEISELT, A. K. DONE et V. C. KELLEY. 1956. *Studies of 17-hydroxycorticosteroids: Adrenalectomy and hypophysectomy in guinea-pigs and their effects on plasma 17-hydroxycorticosteroid concentrations*. Endocr. 58: 651-659.

- HODLER, D. 1937. *Surrénales et masculinisation*. Arch. Anat. Hist. Embryol. 24: 1-80.
- KAHLSON, G., S.-E. LINDELL et H. WESTLING. 1953. *The influence of adrenocortical steroids on the histaminase concentration in some organs of the guinea-pig*. Acta Physiol. Scand. 30: 192-201.
- LIBERT, O., R. DOVAZ et M. M. PERRET. 1957. *Les métabolites de la progestérone (GBS) dans le cycle normal et après hypophysectomie chez le Cobaye*. Rev. suisse Zool. 64: 281-287.
- MEITES, J., J. J. TRENTIN et C. W. TURNER. 1942. *Effect of adrenalectomy on the lactogenic hormone and initiation of lactation*. Endocr. 31: 607-612.
- MORRISON, A. B. 1954. *Bilateral adrenalectomy in the guinea-pig*. J. Endocr. 11: 97-101.
- NELSON, W. O. et R. GAUNT. 1937. *The adrenals and pituitary in initiation of lactation*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 36: 136-138.
- PONSE, K. 1955. *La fonction androgène de l'ovaire chez l'animal*. III^e Réunion des Endocrinologistes de langue française. 89-138.
- O. LIBERT et R. DOVAZ. 1955. *Exploration du corps jaune et du placenta du Cobaye par la détermination d'une fraction des glycuconjugués urinaires*. Ann. Endocr. 16: 122-130.
- ROBINSON, A. R. 1941. *Technic of adrenalectomy in the Guinea-pig*. Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. 19: 261- .
- ROSENBUSCH-WEIHS, D. et K. PONSE. 1957. *Actions rapides et lointaines de l'hypophysectomie chez le Cobaye*. Rev. suisse Zool. 64: 271-280.
- SAVARD, K. 1953. *Paper partition chromatography of C 19 and C 21 ketosteroids*. J. Biol. Chem. 202: 457-477.
- SCHACHTER, R. J. et M. O. BEBEE. 1939. *Assay of adrenal cortical extract*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 40: 541-544.
- TAILLARD, W. et R. VEYRAT. 1947. *Surrénale et masculinisation par l'urine de femme enceinte (U.F.E.)* Rev. suisse Zool. 54: 553-572.
-



Influence de la fonction endocrine du testicule sur l'excrétion de 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine chez l'homme

par

L. G. HUIS IN'T VELD

Institut National de Santé Publique, Utrecht, Pays-Bas

INTRODUCTION

Dans les testicules de l'homme se forment deux précurseurs des 17-cétostéroïdes neutres excrétées dans l'urine, à savoir la testostérone et la $\Delta 4$ -androstène-3,17-dione.

La testostérone a été isolée à l'état pur en 1935 de testicules de taureaux par DAVID, DINGEMANSE, FREUD et LAQUEUR et en 1947 de testicules d'étalons par PRÉLOG, FAGMAN, LIEBERMAN et RUZICKA. La formation de la testostérone dans les testicules du lapin, du cochon et de l'homme a été démontrée expérimentalement par BRADY en 1951, tandis que SAVARD, DOREMAN et POUTASSE démontrèrent la formation de la $\Delta 4$ -androstène-3,17-dione à côté de la testostérone dans le testicule humain (1952). WEST, HOLLANDER, KRITCHEVSKY et DOBRINER démontrèrent la présence de la testostérone et de la $\Delta 4$ -androstène-dione dans le sang de la vena spermatica chez le chien, et LUCAS, WHITMORE et WEST ont pu identifier la testostérone dans le sang de la vena spermatica chez des sujets humains.

Contrairement à la $\Delta 4$ -androstène-3,17-dione, la testostérone ne se trouve normalement pas dans l'urine. Seulement après administration de fortes doses de testostérone par injection, LIEBERMAN, FUKUSHIMA et DOBRINER pouvaient démontrer des traces de testostérone dans l'urine d'un sujet en expérience. La $\Delta 4$ -andro-

stène-3,17-dione par contre a été isolée par LIEBERMAN, DOBRINER, HILL, FIESER et RHOADS de l'urine d'un malade souffrant d'une hyperplasie du cortex surrénal et aussi en petites quantités de l'urine de sujets normaux.

Quand on administre de la testostérone ou de la $\Delta 4$ -androstène-3,17-dione à des sujets en expérience, ces substances se métabolisent en majeure partie dans le corps. Les produits métaboliques sont en partie encore inconnus; un pourcentage considérable de testostérone ou de $\Delta 4$ -androstène-3,17-dione administrée par injection est cependant excrété dans l'urine sous forme de 17-cétostéroïdes neutres. Le métabolisme de la testostérone et de la $\Delta 4$ -androstène-3,17-dione en 17-cétostéroïdes neutres peut être représenté par le schéma suivant (fig. 1).

Tous les produits compris dans le schéma ont été isolés d'extraits urinaires. L'androstérone et l'étiocolane-3 α -ol-17-one sont les produits métaboliques les plus importants de la testostérone ainsi que de la $\Delta 4$ -androstène-3,17-dione: après injection d'une quantité de testostérone on retrouve dans l'urine 30 à 60% de la dose administrée sous forme d'androstérone et d'étiocolane-3 α -ol-17-one, tandis que la quantité totale des autres 17-cétostéroïdes neutres qui se forment se monte tout au plus à 1 ou 2% de la quantité administrée.

* * *

L'androstérone et l'étiocolanolone urinaire ne provient cependant pas exclusivement de stéroïdes testiculaires:

La $\Delta 4$ -androstène-3,17-dione se forme, outre dans le testicule, aussi dans le cortex surrénal. En plus le cortex surrénal sécrète d'autres substances qui se transforment en androstérone et/ou étiocolane-3 α -ol-17-one. En premier lieu la déhydro-épiandrostérone, substance étroitement liée à la $\Delta 4$ -androstène-3,17-dione; en plus des substances comme la 17-hydroxyprogestérone et la 17-hydroxy-11-desoxycorticostérone. Certainement ces deux dernières substances ne sont pas d'une grande importance comme précurseurs, vu qu'on retrouve des quantités administrées de 17-hydroxyprogestérone et de 17-hydroxy-11-desoxy-corticostérone tout au plus un petit pourcentage dans l'urine sous forme d'androstérone et d'étiocolane-3 α -ol-17-one. Ce fait n'empêche pas, qu'en

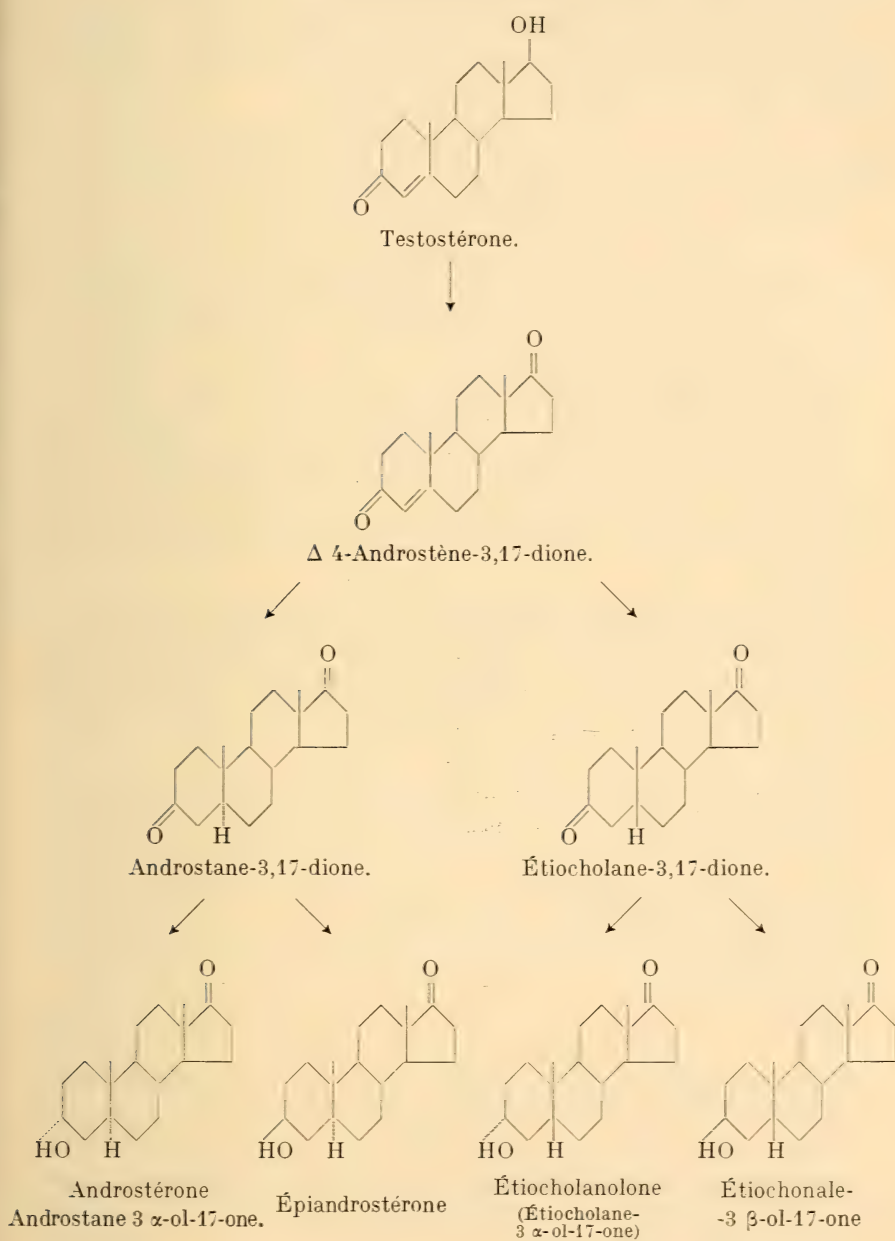


FIG. 1

certaines états pathologiques ces produits intermédiaires de la synthèse des corticostéroïdes peuvent exercer une influence considérable sur l'excrétion d'androstérone et d'étiocolane-3 α -ol-17-one dans l'urine.

DOSAGE DE L'ANDROSTÉRONE ET DE L'ÉTIOLANE-3 α -OL-17-ONE DANS L'URINE

Pour déterminer quantitativement l'androstérone et l'étiocolane-3 α -ol-17-one, on est obligé de fractionner le mélange des 17-cétostéroïdes neutres se trouvant dans l'urine. A cet effet on peut suivre différentes méthodes:

Premièrement, il est possible de se servir de la différence caractéristique des conjugués des 17-cétostéroïdes en vue de leur aptitude à l'extraction de l'urine au moyen du butanol à un certain pH. A l'aide de ce principe JAYLE et BAULIEU ont élaboré une méthode simple pour le fractionnement des 17-cétostéroïdes urinaires.

D'autres chercheurs préfèrent le fractionnement du mélange stéroïdique, après que les conjugués aient été hydrolysés à l'aide d'acides inorganiques ou au moyen de mélanges d'enzymes appropriés. Dans ce cas l'analyse chromatographique sur papier ou sur colonnes rend de grands services.

D'habitude la détermination quantitative des différents 17-cétostéroïdes dans les fractions obtenues se fait par voie colorimétrique. Pour identifier les diverses substances on se sert des constantes physiques des 17-cétostéroïdes: on détermine la réaction caractéristique à l'égard d'un certain adsorbant (= place dans le chromatogramme), le spectrogramme infrarouge et éventuellement le point de fusion.

EXCRÉTION DES 17-CÉTOSTÉROÏDES NEUTRES DE SUJETS NORMAUX

Chez cent hommes normaux nous avons déterminé l'excrétion des 17-cétostéroïdes à l'aide de la méthode DINGEMANSE, HUIS IN'T VELD et HARTOGH-KATZ. Les âges des sujets en expérience variaient entre 1 et 83 ans. Les fractions obtenues par voie chromatographique contiennent les 17-cétostéroïdes neutres suivants:

TABLEAU 1

Fraction I	Δ 3.5-androstadiène-17-one Δ 2-androstène-17-one 3-chloro- Δ 5-androstène-17-one
Fraction II	i-androstane-6-ol-17-one
Fraction III	épiandrostérone déhydro-épiandrostérone
Fraction IV	androstérone Δ 9-androstène-3 α -ol-17-one
Fraction V	étiocholane-3 α -ol-17-one Δ 9-étiocholène-3 α -ol-17-one
Fraction VI	11-cétoétiocholane-3 α -ol-17-one 11-hydroxyandrostérone
Fraction VII	11-hydroxyétiocholane-3 α -ol-17-one
Fraction VIII	Produits non identifiés

Afin de reproduire les résultats de la façon la plus simple, les fractions II et III sont combinées dans les tableaux suivants; ceci en se basant sur le fait que l'i-androstane-6-ol-17-one et la déhydro-épiandrostérone sont tous deux des produits de l'hydrolyse du sulfate de déhydroépiandrostérone (HUIS IN'T VELD, 1956). En outre, puisque la teneur en fraction VIII est généralement très basse, souvent nulle chez des sujets normaux, nous avons supprimé les données concernant cette fraction dans les tableaux.

Le tableau 2 montre les données concernant l'excrétion des 17-cétostéroïdes neutres de l'homme normal en rapport avec l'âge.

Chez des enfants l'excrétion des 17-cétostéroïdes est basse, notamment celle des fractions IV et V, qui contiennent l'androstérone et l'étiocholane-3 α -ol-17-one. Entre la dixième et la vingtième année, l'excrétion des différents 17-cétostéroïdes s'accroît nettement, spécialement celle de l'androstérone et de l'étiocholane-3 α -ol-17-one (resp. fraction IV et V). L'excrétion des 17-cétostéroïdes oxydés en C₁₁ s'accroît dans une mesure beaucoup moins spectaculaire et atteint entre la quinzième et la vingtième année un plateau; à un âge plus avancé l'excrétion de ces stéroïdes décroît seulement graduellement. Par contre l'excrétion de la fraction IV

TABLEAU 2
L'excrétion de 17-cétostéroïdes neutres chez des hommes normaux

Nombre de sujets en expérience	Age en années	17-cétostéroïdes en mg/24 heures					
		I	II + III	IV	V	VI + VII	Teneur totale
4	1-5	0,0-0,2 (0,1)	0,1- 0,8 (0,4)	0,0-0,1 (0,0)	0,0-0,1 (0,1)	0,0-0,6 (0,3)	0,1- 2,3 (1,0)
9	6-10	0,0-0,5 (0,1)	0,0- 0,5 (0,2)	0,0-0,9 (0,2)	0,0-0,9 (0,3)	0,0-1,7 (0,6)	0,4- 4,4 (1,5)
23	11-15	0,0-1,2 (0,4)	0,0- 2,0 (0,9)	0,0-3,7 (2,1)	0,2-4,2 (1,7)	0,3-4,0 (1,7)	1,7-12,7 (7,2)
25	16-20	0,6-2,5 (1,3)	0,2- 8,6 (1,9)	2,2-9,5 (5,1)	1,6-9,0 (3,6)	1,2-3,0 (2,3)	6,7-28,7 (14,5)
9	21-25	0,2-5,6 (2,5)	1,1- 9,4 (4,2)	3,5-9,2 (5,8)	0,8-8,9 (4,6)	1,2-4,8 (2,6)	10,2-33,4 (20,3)
8	26-30	0,7-4,2 (2,3)	2,7-11,4 (6,2)	3,2-8,6 (5,8)	2,0-7,6 (5,1)	1,2-4,3 (1,8)	14,3-31,3 (23,6)
5	31-35	0,7-4,8 (1,8)	1,7-11,6 (5,2)	2,2-7,0 (4,7)	1,6-8,4 (4,3)	1,1-3,0 (2,1)	9,9-31,8 (18,2)
6	36-40	0,2-2,0 (1,1)	0,8- 6,0 (2,6)	2,2-6,7 (4,2)	1,4-7,2 (3,8)	1,3-3,3 (2,5)	12,9-21,4 (16,5)
2	41-45	1,3-1,9 (1,6)	2,0- 2,5 (2,3)	3,0-4,6 (3,8)	1,5-4,0 (2,8)	1,7-2,1 (1,9)	10,1-14,8 (12,5)
3	46-50	0,6-2,5 (1,0)	0,9- 2,7 (1,6)	2,9-4,1 (3,5)	2,0-3,8 (3,1)	1,2-2,3 (1,7)	8,1-15,1 (11,3)
0	51-55	—	—	—	—	—	—
2	56-60	0,9-1,3 (1,1)	0,6- 2,5 (1,6)	2,6-2,9 (2,8)	3,1-3,6 (3,4)	0,6-1,4 (1,0)	8,1-12,6 (10,4)
1	61-65	0,7	3,4	0,5	3,0	1,0	9,0
1	66-70	0,4	4,5	3,7	1,3	1,3	8,7
1	71-75	0,1	1,7	1,0	1,6	2,0	6,4
0	76-80	—	—	—	—	—	—
1	81-85	0,5	1,8	1,6	2,2	0,6	7,7

(— androstérone) et V (— étiocholane-3 α -ol-17-one) montre un maximum prononcé à l'âge de 25 à 30 ans.

L'excrétion des fractions II et III de sujets jeunes fait voir également un accroissement considérable. L'excrétion de ces stéroïdes est trois fois plus élevée chez les hommes adultes que chez les femmes adultes (voir HUIS IN'T VELD, 1952), tandis que le taux des fractions IV et V est deux fois plus élevé; la différence la plus marquée entre l'excrétion des 17-cétostéroïdes chez les hommes et chez les femmes ne réside donc pas dans celle de l'androstérone et de l'étiocholane-3 α -ol-17-one mais dans celle des fractions contenant les produits de l'hydrolyse du sulfate de déhydro-épiandrostérone !

EXCRÉTION DE 17-CÉTOSTÉROÏDES NEUTRES CHEZ LES CASTRATS CHIRURGICAUX

Afin d'avoir une vue plus claire quant à la quantité d'androstérone et d'étiocholane-3 α -ol-17-one provenant des stéroïdes génitaux, nous avons déterminé l'excrétion des 17-cétostéroïdes chez quatre jeunes gens, ayant subi une castration chirurgicale. Deux de ces sujets en expérience avaient été opérés pour cause de blessures de guerre (tableau 3).

TABLEAU 3

L'excrétion des 17-cétostéroïdes neutres chez des sujets orchidectomisés

Nom	17-cétostéroïdes neutres en mg/24 heures						
	I	II + III	IV	V	VI + VII	Total	
de Jo. 1	1,4	4,5	2,4	2,2	3,0	14,1	Après castration
de Jo. 2	0,0	2,3	1,1	2,8	2,4	8,8	» »
v. Han	0,7	2,7	1,1	1,6	3,5	10,6	» »
Ham 1	0,6	1,7	1,8	1,6	2,2	8,3	» »
Ham 2	0,3	0,9	2,6	0,9	1,3	6,0	» »
Sch. 1	2,7	1,8	8,2	6,7	1,5	21,1	Avant castration
Sch. 2	1,1	1,4	1,8	4,0	0,9	9,7	Après castration
Sch. 3	1,4	2,3	1,6	5,1	1,6	13,1	» »

Le patient Ham. fut castré sur sa demande après qu'il eut commis un délit sexuel. Le quatrième sujet en expérience, Sch., fut opéré parce qu'il existait la possibilité d'un développement d'une affection maligne des gonades.

Chez ces quatre sujets castrés il fut constaté une teneur globale basse à basse-normale en 17-cétostéroïdes. Les fractions VI et VII correspondent cependant tout à fait aux niveaux que nous trouvons chez des jeunes gens normaux et la fraction (II + III) est également normale; c'est la fraction IV (— androstérone) qui se trouve chez plusieurs de nos sujets en expérience au-dessous de la limite inférieure des valeurs normales; dans un seul cas seulement nous trouvons une teneur basse-normale. La fraction V (— étiocholanolone) est basse-normale et dans un cas elle est plus basse que les valeurs minima que nous trouvons chez des hommes normaux.

Chez le malade Sch. nous avons eu l'occasion de déterminer l'excrétion des 17-cétostéroïdes avant et après castration. La fraction IV est nettement diminuée après l'opération; l'étiocholanone-3 α -ol-17-one diminue aussi, mais de façon moins spectaculaire. L'excrétion des autres fractions ne se trouve pas influencée par l'orchidectomie.

* * *

INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION DES GONADOTROPHINES CHORIONIQUES

La sécrétion d'hormones testiculaires est influencée par les gonadotrophines du type LH. Nous avons étudié l'effet de l'administration de gonadotrophines chorioniques sur l'excrétion des 17-cétostéroïdes neutres chez trois sujets qui souffraient d'une hypofonction partielle de l'hypophyse.

TABLEAU 4

L'excrétion des 17-cétostéroïdes neutres avant et après le traitement de gonadotrophines placentaires

Nom	Age	17-cétostéroïdes en mg/24 heures						Traitements
		I	II + III	IV	V	$\frac{z}{z} + \frac{VI}{z} + VII$	Total	
J. We 1	14	0,9	3,5	2,2	2,3	4,0	13,6	sans traitement
J. We 2	»	1,4	1,8	6,6	6,8	2,3	19,4	après 34200 U.I. Pregnyl (Organon)
K. de Wi 1	15	0,3	1,4	2,2	4,9	8,7	14,4	sans traitement
K. de Wi 2	»	0,4	1,0	2,8	1,7	1,7	8,4	»
K. de Wi 3	»	0,2	0,7	5,5	3,6	1,7	11,7	après 34200 U.I. Pregnyl (Organon)
H. Ir 1	32	0,2	0,6	4,6	3,3	2,6	11,6	sans traitement
H. Ir 2	»	2,6	2,0	7,2	4,8	3,1	20,7	après 99000 U.I. Pregnyl (Organon)

Le premier malade, J. We., était un garçon de 14 ans, qui montrait une obésité pelvienne et scapulaire. Les testicules et le pénis étaient petits. Le système pileux sexuel n'était pas développé. La glande thyroïde était agrandie.

Les dosages hormonaux donnaient les résultats suivants: la teneur en gonadotrophines dans l'urine déterminée selon la méthode citée par GORTER et DE GRAAF n'était pas accrue. La teneur en 17-hydroxystéroïdes déterminée au moyen de la méthode de REDDY, JENKINS et THORN était normale, à savoir 5,4 mg/24 heures. La teneur en 17-cétostéroïdes était légèrement au-dessus de celle de garçons normaux du même âge; notamment les fractions III et VI + VII étaient accrues; par contre les fractions IV et V étaient normales.

Pendant un mois le patient fut traité à l'aide de gonadotrophines placentaires (Pregnyl Organon). Au total on administra 34200 U.I. Cette période finie, on fit à nouveau un examen des hormones dans l'urine. Cette fois encore on trouva une teneur normale en 17-hydroxycorticostéroïdes, à savoir 3,6 mg/24 heures. L'excrétion globale des 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine s'était accrue: les fractions II + III et VI + VII se trouvaient être plus basses que lors de la première détermination. Par contre les fractions IV (— androstérone) et V (— étiocolane-3 α -ol-17-one) montraient une augmentation considérable. Le deuxième diagramme des 17-cétostéroïdes correspondait à celui d'hommes adultes.

Le deuxième patient, K. de W., avait 15 ans lorsqu'il fut hospitalisé. Il mesurait 148,5 cm et avait un poids de 71,8 kg. Le patient était débile.

Le système pileux pubien secondaire manquait à l'exception de quelque duvet dans la région pubienne. Les autres caractères sexuels secondaires n'étaient pas développés: le pénis était infantile; le scrotum ne s'était pas encore formé, les testicules non palpables.

La teneur en 17-cétostéroïdes dans l'urine était plutôt élevée. Lors d'un fractionnement il s'avérait une teneur anormalement élevée des fractions VI et VII.

La teneur en oestrogènes était équivalente à moins d'un microgramme d'oestrone (dosage biologique). La teneur en gonadotrophines n'était pas accrue; pour cette raison il fut admis qu'une hypofonction partielle de l'hypophyse se trouvait à la base de l'hypogonadisme. On traita le patient à l'aide de gonadotrophines placentaires. Au total on administra 34200 U.I. durant 12 jours consécutifs.

Les effets de ce traitement sur la condition clinique étaient incontestables. Le malade faisait même une impression moins défectueuse dans le domaine intellectuel. Il se produisait une assez forte croissance du pénis et du scrotum. Les testicules descendaient jusqu'au fond du scrotum.

La teneur globale en 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine ne montrait pas d'augmentation mais la composition du mélange se modifiait nettement: la fraction IV (— androstérone) augmentait, tandis que l'excrétion des autres fractions se maintenait, ou diminuait.

Le troisième sujet en expérience était un homme de 32 ans, aux symptômes d'éjaculatio tarda. Ce patient démontrait en outre un physique efféminé; on constata une gynécomastie légère; les testicules étaient mous, la prostate vigoureuse. Le patient était marié, mais le mariage était resté sans enfants.

La teneur en gonadotrophines dans l'urine fut déterminée deux fois et s'avérait non accrue. On en conclut que l'hypofonction devait être de nature hypophysaire. La teneur en substances oestrogènes était normale (équivalent à environ 7,5 microgrammes d'oestrone/24 heures). On trouve deux fois une teneur basse-normale en 17-cétostéroïdes neutres (à savoir 12,8 et 11,6 mg/24 heures). Une biopsie testiculaire montrait de menus troubles dans un testicule par ailleurs normal, avec une bonne spermatogenèse: il y avait quelques petits groupes de cellules de Leydig normaux; quelques tubuli seulement montraient une couche de cellules de Sertoli; plusieurs tubes étaient selon le jugement du pathologiste trop petits en calibre.

Le malade fut traité pendant 6 semaines à l'aide de gonadotrophines placentaires (trois fois par semaine 1500 U.I.). En outre on lui administra une fois par semaine une injection de 50 mg de propionate de testostérone. Sous l'influence de ce traitement l'état du malade ne s'améliorait pas. On poursuivit le traitement jusqu'à ce qu'au total 99 000 U.I. de gonadotrophines chorioniques eussent été administrées. La détermination des 17-cétostéroïdes, à la fin de cette période, donna comme résultat 20,7 mg/24 heures. Lors d'une détermination fractionnée il s'avéra que les fractions I, II + III, IV et V s'étaient accrues.

Durant la dernière période du traitement l'état clinique du malade s'améliora nettement.

L'administration de gonadotrophines placentaires donnait à trois malades une excrétion accrue en fraction IV et V (respectivement —androstérone et —étiocholane-3 α -ol-17-one); chez un de ces malades l'excrétion des fractions II et III s'accroissait également.

QUELQUES CAS DE TUMEURS TESTICULAIRES

Avant de discuter les résultats obtenus, quelques cas de tumeurs testiculaires qui sont extrêmement intéressants du point de vue endocrinologique, seront présentés. En premier lieu un cas de tumeur des cellules interstitielles du testicule:

Il s'agissait d'un homme de 58 ans, marié mais sans enfants; chez ce malade on constata une grande tumeur testiculaire. Pour l'examen des hormones on recueillit l'urine avant que le patient vint pour être opéré (tableau 5).

TABLEAU 5

L'excrétion des 17-cétostéroïdes neutres chez un sujet souffrant d'une tumeur des cellules interstitielles du testicule

Nom	Age	17-cétostéroïdes neutres en mg/24 heures					
		I	II + III	IV	V	VI + VII	Total
Wi	58	0,8	1,6	2,0	1,4	0,3	6,2

La teneur en 17-cétostéroïdes dans l'urine n'était certainement pas accrue. L'urine contenait une haute teneur en substances oestrogènes, équivalent à 60 microgrammes d'oestrone/24 heures (déterminé biologiquement). Après l'opération nous avons eu l'occasion d'examiner une partie de la tumeur. Nous ne pouvions pas y démontrer de testostérone, bien que la méthode de détermination dont nous nous servions fût assez sensible pour pouvoir démontrer encore des quantités de 10 microgrammes. L'extrait de la tumeur contenait une quantité de substances oestrogènes dont l'activité biologique correspondait à celle de 5 micro-

grammes d'oestrone. (Normalement on trouve dans le testicule humain une quantité de 6 microgrammes/kg.) L'excrétion des 17-cétostéroïdes dans l'urine ne se modifiait à peine après l'opération, mais la teneur en substances oestrogènes faisait voir une forte diminution: six mois après l'opération on trouve une teneur équivalente à 5 microgrammes environ d'oestrone, tandis qu'une année après l'opération la teneur se montait à peu près équivalente à 7,5 microgrammes/24 heures. Depuis l'opération le patient est impuissant et se plaint de la perte de libido.

Les tumeurs des cellules interstitielles du testicule parfois donnent lieu à une excrétion excessive de 17-cétostéroïdes neutres. Chez ce malade de 58 ans cependant, la teneur en 17-cétostéroïdes dans l'urine ne montrait aucune anormalité. Après enlèvement de la tumeur l'excrétion des 17-cétostéroïdes démontrait à peine quelque abaissement.

* * *

La détermination différenciée des 17-cétostéroïdes de trois patients souffrant de chorionépithéliome donnait les résultats compilés en tableau 6.

TABLEAU 6

L'excrétion des 17-cétostéroïdes neutres chez des sujets souffrant de chorionépithéliome

Nom	Age	17-cétostéroïdes neutres en mg/24 heures					
		I	II + III	IV	V	VI + VII	Total
Ko 1	2	0,4	0,5	5,0	3,9	0,9	10,8
Ko 2	»	1,3	1,8	6,5	2,7	2,0	14,9
Ko 3	»	0,2	0,1	9,5	3,7	3,1	17,3
v. d. W. *	21	0,4	1,4	2,2	0,9	2,1	7,6
Ja *	..	0,2	1,8	1,1	0,5	0,5	5,3

* Quantité de 17-cétostéroïdes par litre.

Le premier malade, âgé de 2 ans et demi, fit voir depuis six mois des symptômes de macrogénitosomie. Ni par l'examen clinique de routine, ni par l'examen neurologique, pas plus que par la radiologie, on ne réussit à constater la cause de ce trouble.

L'examen des hormones dans l'urine fournit les résultats suivants: la teneur en 17-cétostéroïdes était nettement augmentée; la teneur en substances oestrogènes était également accrue et se montait équivalente à 40 microgrammes d'oestrone par 24 heures. Plus tard on trouva 60 000 U./24 heures de gonadotrophines, tandis qu'avec l'urine vingt fois diluée la réaction aux mélanophores de la *Rana temporaria* hypophysectomisée était encore positive. Dans la première phase de la maladie, qui correspond à la première détermination des 17-cétostéroïdes on exposait les surrénales du petit; celles-ci étaient de grandeur et d'aspect normaux et une biopsie ne fournit pas de tissu pathologique.

Encore du vivant du petit patient on constata des métastases tumorales dans les poumons et dans les parties molles de la jambe droite supérieure. Seulement lors de l'autopsie on trouva la tumeur primaire sous forme de chorionépithéliome dans le médiastin antérieur, tandis qu'il y avait des métastases dans les ganglions lymphatiques médiastinaux, dans les poumons, dans la surrénale droite, dans le gyrus centralis du cerveau et dans les parties molles de la jambe droite supérieure. Dans les testicules on ne découvrit pas de métastases, pourtant bien nombre de cellules de Leydig; les tubules ne montraient pas de maturation des cellules mais bien beaucoup de mitoses. Dans quelques cellules seulement il y avait des spermatogonies différenciées.

L'hypophyse ne montrait pas de modifications.

Dans la première phase de la maladie, il se produisait chez ce petit une excrétion accrue des fractions contenant l'androstérone et l'étiocolanolone. Dans une phase plus avancée de la maladie la teneur en fraction IV et V se trouvait être encore augmentée; en outre l'excrétion des autres fractions était élevée à cette époque.

* * *

Il est intéressant de comparer les données de ce petit malade avec celles obtenues chez deux sujets adultes souffrant de chorionépithéliome, qui étaient orchidectomisés.

M. v. d. W., a été opéré il y a sept semaines et demie pour cause de chorionépithéliome testiculaire. Il souffre de métastases pulmonaires qui ne réagissent pas au traitement radiologique. La teneur en substances oestrogènes se montrait équivalente à 20 microgrammes d'oestrone par litre. Les gonadotrophines montaient à 25 000 U./litre. L'urine dix fois diluée contenait encore une concentration d'hormones démontrable aux mélanophores de la grenouille hypophysectomisée.

Le patient Ja. a été opéré il y a un an environ pour cause de chorionépithéliome testiculaire. Après l'opération il était bien portant durant

un certain temps. Après un grand effort physique cependant il eut un affaissement. A la radiographie il s'avéra qu'il y avait beaucoup de métastases répandues dans le corps entier.

La teneur en substances oestrogènes se trouvait dans cette période équivalente de 30 à 60 microgrammes d'oestrone par litre d'urine. En gonadotrophines il y avait 800 000 U./litre. A une dilution 1:100 000 l'urine donnait encore une réaction positive aux mélanophores de la grenouille hypophysectomisée.

Ces deux malades orchidectomisés ne démontraient pas d'augmentation des 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine, bien que les métastases tumorales produisaient des quantités énormes de gonadotrophines.

DISCUSSION ET CONCLUSION

A base des données traitées on peut essayer de se faire une idée de l'influence de la fonction endocrine du testicule sur l'excrétion des 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine. A cet effet nous résumerons encore une fois point par point les faits constatés.

1. Avant la puberté l'excrétion des 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine est restreinte; le mélange 17-cétostéroïdes contient surtout les substances élues dans les fractions II + III (i-androstanol-6-one-17, 3 β -17-cétostéroïdes) et VI + VII (17-cétostéroïdes avec oxygène en C₁₁).

2. Durant la puberté l'excrétion des 17-cétostéroïdes augmente; en même temps la composition du mélange des 17-cétostéroïdes se modifie, parce que l'excrétion des fractions II + III (i-androstanol-6-one-17, 3 β -17-cétostéroïdes), IV (—androstérone) et V (—étiocholane-3 α -ol-17-one) s'accroît plus que celle des 17-cétostéroïdes oxydés en C₁₁.

3. A un âge plus avancé l'excrétion des fractions II et III ainsi que des fractions IV et V décroît nettement. L'excrétion des 17-cétostéroïdes à oxygène en C₁₁ (fraction VI + VII) par contre ne montre qu'une baisse légère.

4. Quelques personnes qui, à l'âge d'adulte, ont subi une orchidectomie, montrent une excrétion normale des fractions II + III et des 17-cétostéroïdes oxygénés en C₁₁, tandis que la teneur en fractions contenant l'androstérone et l'étiocholane-3 α -ol-17-one était de diminuées à basse-normale.

5. L'administration de gonadotrophines chorioniques à trois sujets en expérience souffrant d'une hypofonction partielle de l'hypophyse résultait en un accroissement de l'excrétion des fractions qui contiennent l'androstérone et l'étiocolane-3 α -ol-17-one. Chez un des sujets en expérience on constate en outre une augmentation de l'excrétion en fractions II + III.

6. Chez un patient souffrant d'une tumeur des cellules interstitielles du testicule l'excrétion des 17-cétostéroïdes était basse-normale. Après enlèvement de la tumeur l'excrétion des 17-cétostéroïdes se maintenait à peu près au même niveau; l'excrétion des substances oestrogènes cependant, augmentée avant l'opération, baissait fortement après l'enlèvement de la tumeur.

7. Chez deux malades souffrant de chorionépithéliomes testiculaires ayant subi une orchidectomie pour cause de cette affection, l'excrétion des 17-cétostéroïdes correspondait à celle de personnes castrées pour cause de blessure de guerre.

8. Chez un enfant chez lequel se développait du chorionépithéliome dans le médiastin antérieur, il se produisait dans la première phase de la maladie une excrétion augmentée des fractions IV (—androstérone) et V (—étiocolane-3 α -ol-17-one). Dans le domaine clinique il y avait à cette époque des symptômes de macrogénitosomie, mais pas d'autres plaintes. Dans une phase plus avancée de la maladie la teneur en fraction IV et V se trouvait être encore accrue; à cette époque l'excrétion des fractions II + III et des 17-cétostéroïdes oxygénés en C₁₁ était plus élevée que chez des enfants normaux du même âge.

* * *

Malgré le fait, que l'androstérone et l'étiocolane-3 α -ol-17-one ne sont pas dérivés exclusivement de précurseurs testiculaires, l'excrétion urinaire de ces substances subit incontestablement l'influence de la sécrétion des testicules:

Après orchidectomie, l'excrétion des fractions contenant l'androstérone et l'étiocolanolone se trouve diminuée; l'excrétion de ces fractions augmente quand les testicules sont stimulés par des gonadotrophines chorioniques, soit que l'on administre les gonadotrophines par injection, soit qu'ils sont sécrétés par une tumeur, comme dans le cas de l'enfant Ko.

Bien que nos données ne permettent pas une conclusion définitive quant à l'influence de l'hormone LH sur la sécrétion des androgènes par le cortex surrénal, il est évident que ce substrat doit être beaucoup moins sensible à la stimulation des gonadotrophines que le testicule. Il en reste pourtant plusieurs questions à poser: Quelle est, par exemple, la signification de l'accroissement des fractions II et III (contenant les produits de l'hydrolyse du sulfate de déhydro-épiandrostérone) qui se produit pendant la puberté des sujets mâles ? On est enclin à penser à une stimulation de la fonction androgène du cortex surrénal, soit sous l'influence des gonadotrophines hypophysaires, soit sous l'influence de la sécrétion testiculaire. D'autre part, les résultats obtenus après administration de gonadotrophines placentaires à de jeunes sujets, souffrant d'une hypofonction partielle de l'hypophyse, donnent plutôt l'impression que la sécrétion testiculaire a une action inhibitrice sur la fonction androgène du cortex surrénal.

Une tentative d'interpréter ces derniers résultats ne peut pas être entreprise dans la phase actuelle de nos recherches. L'investigation présente avait pour but d'étudier l'influence de la fonction testiculaire sur l'excrétion des 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine. Les résultats obtenus permettent, à notre opinion, exclusivement des conclusions sur l'influence directe de la sécrétion testiculaire. La question de l'influence indirecte reste à être élucidée.

BIBLIOGRAPHIE

- BRADY, R. O. 1951. *J. Biol. Chem.* 193: 145.
 DAVID, K., E. DINGEMANSE, J. FREUD et E. LAQUEUR. 1935. *Z. Physiol. Chem.* 233: 281.
 DINGEMANSE, E., L. G. HUIS IN'T VELD et S. L. HARTOGH-KATZ. 1952. *J. Clin. Endocrinol. a. Met.* 12: 66.
 GORTER, E. et W. C. DE GRAAF. 1956. *Klinische Diagnostiek* 1: 465. Edité par Stenfert Kroese, Leiden, 1956.
 HUIS IN'T VELD, L. G. 1952. *Symposium sur la Biochimie des Stéroïdes*, pp. 39-46. Deuxième Congrès international de Biochimie, Paris, 1952. Edité par Masson & C^{ie}, Paris, 1952.
 — 1956. *Proceedings of the Third International Congress of Biochemistry, Brussels 1955*, pp. 515-518. Edité par « Academic Press », New-York, 1956.
 JAYLE, M. F. et E. BAULIEU. 1952. *Bull. Soc. Chim. de France* 34: 1200.

- LIEBERMANN, S., K. DOBRINER, B. R. HILL, L. F. FIESER et C. P. RHOADS.
1948. J. Biol. Chem. 172: 263.
- D. K. FUKUSHIMA et K. DOBRINER. 1950. J. Biol. Chem. 182: 299.
- LUCAS, W. M., W. F. WHITMORE Jr. et C. D. WEST. 1957. J. Clin.
Endocrinol. a. Met. 13: 465.
- PRELOG, V., E. FAGMAN, S. LIEBERMAN et L. RUZICKA. 1947. Helv.
Chim. Acta 30: 1080.
- REDDY, W. J., D. JENKINS et G. W. THORN. 1952. Metabolism 1: 511.
- SAVARD, K. R. I. DORFMAN et E. POUTASSE. 1952. J. Clin. Endocrinol.
a. Met. 12: 935.
- WEST, C. D., V. P. HOLLANDER, P. H. KRITCHEVSKY et K. DOBRINER.
1952. J. Clin. Endocrinol. a. Met. 12: 915.
-

Experimentally induced Ovulation in the Rhesus Monkey (*Macaca mulatta*)¹

by

G. van WAGENEN and Miriam E. SIMPSON

Department of Obstetrics and Gynecology, Yale University School of Medicine
and

Institute of Experimental Biology, University of California, Berkeley

*Dedicated to Kitty Ponse as an expression
of our esteem*

Growth of ovarian follicles can be induced readily in infantile, prepuberal and adult monkeys by the injection of appropriate gonadotrophic substances. Multiple large follicles result from implants of anterior pituitary tissue, from the injection of unfractionated sheep and pig pituitary extracts as well as their purified follicle stimulating fractions (FSH), and from equine serum gonadotrophin (ALLEN, 1928; COURRIER, KEHL and RAYNAUD, 1929; HARTMAN and SQUIER, 1931; HISAW, FEVOLD and LEONARD, 1931; ENGLE, 1933; DE FREMERY, 1939).

Follicular development with ovulation, however, has been more difficult to achieve. In the studies presented here, an increase in the number and size of growing follicles has followed the use of sheep pituitary FSH, and of both unfractionated and fractionated

¹ This investigation has been made with assistance of grants from the Committee on Research, Council of Pharmacy and Chemistry, American Medical Association; and from the United States Public Health Services: C-429 to Yale University School of Medicine from the National Cancer Institute, and RG-4339 to the Institute of Experimental Biology, University of California, Berkeley, from the Division of Research Grants.

monkey pituitary extracts. Under such stimulation ovaries weighing less than 0.1 to 0.2 gm have been increased within a week to 2 to 4 gm. Ovaries having initially only a few follicles 0.5 to 1 mm in diameter, developed within this period multiple follicles as large as 3 to 8 mm in diameter. If injections were continued to within 24 to 36 hours of removal of the ovaries, the follicles were still healthy, with intact granulosa showing mitoses, and no macrophages in the antrum. Such ovaries were translucent due to the multiplicity of large vesicular structures but, usually, were not cystic, the follicles characteristically not exceeding ovulation size. The granulosa was either compact or showed pre-ovulatory scattering, especially in the cumulus. Invasion of granulosa by blood vessels and theca cells was not usually observed following moderate doses of purified FSH. When high doses, or preparations of FSH contaminated heavily the interstitial cell stimulating hormone (ICSH), were given, epithelialization of the membrana granulosa and of the theca interna was observed. In such instances luteinized structures were sometimes formed, resembling corpora lutea, but with enclosed ova. Administration of supplementary pituitary interstitial cell stimulating hormone (ICSH), or human chorionic gonadotrophin (HCG) increased the extend of thecal luteinization. In common with the experience of other workers in this field, it has proven difficult to determine the effective conditions for induction of ovulation and normal corpus luteum formation (ENGLE, 1934; HISAW, GREEP, FEVOLD, 1935; HARTMAN, 1938 and 1942, VAN WAGENEN and SIMPSON, 1957).

In the effort to establish the conditions necessary for ovulation, the efficacy of follicle stimulating agents from different pituitary sources was investigated, as was the optimum dose levels and the duration of treatment required to produce follicles of mature size in monkeys of different ages. It was also necessary to determine the requirement for a luteinizing agent, the proper dosage, and the time of administration in relation to follicular growth. In the adult animal it was necessary to relate these factors to the time in the menstrual cycle.

Conditions which proved effective in producing ovulation in adult and preadolescent monkeys are recorded in Table I. The first experiments listed are instances of ovulation after stimulation

of the ovary by monkey anterior pituitary preparations.¹ Four mature monkeys received injections of pituitary fractions beginning the 5th or 6th day of the menstrual cycle. The injections of pituitary substance were continued for 8 or 9 days and were supplemented during the last 4 days of the period by high doses of HCG.² Three of the four animals (Mm 884, 878, 812) so treated ovulated. In the one which failed to ovulate the dose of the pituitary preparation was somewhat lower and that of HCG was only 1/6 the dose which resulted in ovulation in the other three. Normal cyclic ovulation of a single ovum proceeded in this monkey without interference from the excessive follicular stimulation. The rhesus monkey characteristically matures one ovum each menstrual cycle, as does the human female, instances of twinning with non-identical offspring occurring in no larger proportion of normal births than in the human.³ Experimentally induced ovulation, on the other hand, was characteristically multiple. Therefore, only those instances in which multiple corpora lutea, and multiple stigmata were present, were considered to be the result of treatment in the adult macaque.

Monkey Mm 812 and Mm 878 received comparable dosages of the two hormones, monkey anterior pituitary 40% alcohol preparation and chorionic gonadotrophin, beginning on the fifth day of the menstrual cycle. Mm 812 (9 years, 6,850 gm) received 2.5 mg of the pituitary preparation twice daily, 5 days, subcutaneously, after which the dose was reduced to 1.5 mg given mixed with 600 IU HCG twice daily, 4 days. The left ovary was removed on the 15th day of the menstrual cycle, the 2nd day after injections

¹ Pituitaries of *Macaca mulatta* were obtained from the Cutter Laboratories, Berkeley, through the courtesy of Walter E. Ward, Donald Trotter and Donald H. Wonder, and from the Statens Seruminstitut, Copenhagen, through the courtesy of Preben and Herdis von Magnus. The anterior lobes were dissected within 2 hours after death of the animals and frozen immediately. The glands were counted, pooled, weighed and lyophilized. Forty percent ethyl alcohol extracts were made and the soluble material was lyophilized. The potency of the preparation in terms of units of FSH and ICSH (minimal dose for reinstatement of follicular growth, or minimal dose effective in repair of the interstitial cells in the immature hypophysectomized rat) varied from 0.4 mg to 0.75 mg.

² The human chorionic gonadotrophin was kindly supplied by Parke, Davis and Company through the courtesy of Daniel A. McGinty.

³ Among 358 monkey pregnancies recorded in the colony in the Yale Department of Obstetrics, non-identical twins occurred only once.

ceased. It weighed 2.56 gm and showed three open stigmata.¹ The corpora lutea were variable in degree of development and were estimated to be from one to four days old² (Fig. 1). This would indicate that ovulation began soon after administration of the high dose of luteinizing agent. On removal of the remaining ovary seven days later (22nd day of the cycle) the corpora lutea were found to be well consolidated, conforming in structure to corpora lutea 10 to 12 days old (Fig. 2). This ovary was embedded in adhesions which had resulted from the extensive disruption of the ovarian surface incident to multiple ovulation. This made it impossible to dissect the ovary accurately for weighing, and interfered with identification of stigmata, but it could be determined that at least five of the large corpora lutea had expelled their ova. The uterus held an actively secreting endometrium indicating the presence of functional lutein tissue.

Mm 878 (5 years, 5,095 gm) received 2.5 mg of the pituitary preparation twice daily, 4 days, subcutaneously, after which it was reduced to 1.5 mg and given mixed with 600 IU HCG twice daily for 4 days; 50 mg of lactogenic hormone was injected daily for 3 days, the period overlapping the two last days gonadotrophin was given. The ovarian response was examined on the next day, the 14th day of the menstrual cycle. At laparotomy five sites of recent ovulation in each ovary presented the appearance of oozing craters, 3 to 4 mm in diameter, rimmed with the everted newly luteinized follicle walls, only one of which is shown in the photomicrograph (Fig. 3). The right ovary removed at this time

¹ The term stigma has long been used to indicate the break in the follicular wall at the surface of the ovary through which the ovum has been expelled. Immediately after ovulation the stigma appears as an irregular tear from which follicular fluid exudes. As the walls of the follicle become luteinized a plug of lutein tissue usually forms which extends as a tuft from the surface of the ovary, later becoming vascularized. When there is a minimum of pressure within, the edges of the torn follicle wall may approximate and the opening close with cicatricial tissue within a few days. When extruding luteal tissue is present it regresses with the aging of the corpus luteum, remaining as a fibrotic tuft for several menstrual cycles. With increased pressure, such as accompanies multiple ovulation, the torn follicle walls evert and the lutein tissue grows out over the surface of the ovary.

² The ages of the corpora lutea were determined by comparison with the structure of those in a series of ovaries removed from normal monkeys on known days of the cycle; also by comparison with Corner's description and illustrations of the development and regression of the corpus luteum in the macaque (1945).

weighed 1.42 gm. Six days later, on the 20th day of the menstrual cycle, the contralateral ovary (left) contained eight corpora lutea, 5 of which had identifiable ovulation stigmata. The craters by this time were filled with luteal tissue and the corpora lutea had become solid structures, but the points of rupture were still indicated by mushroom-like protruberances from the surface of the ovary (Fig. 4). From their structure, the ages of these corpora lutea were estimated to be 10 to 11 days. The second ovary weighed 0.69 gm, less than half the first, due to discharge and absorption of follicular fluid.

Multiple ovulation was also induced in the adult monkey Mm 884 (6½ years; 5,180 gm). The pituitary fraction made from pooled anterior lobes of macaque monkeys was injected at 2.5 mg doses, twice daily subcutaneously, for five days, beginning the sixth day of the menstrual cycle. During the ensuing four days the dose of the pituitary fraction was reduced to 1.5 mg and injected twice daily mixed with 600 IU of HCG. The left ovary removed 36 hours after the last injection, on the 16th day of the cycle, weighed 3.88 gm. It contained, in addition to large follicles, 12 corpora lutea. A rupture point was identified in each corpus luteum. Four of the corpora lutea and two open stigmata are shown in Fig. 5. The ages of the corpora lutea were less than 6 days, probably between 2 and 4 days, indicating that here, too, ovulation had followed soon after the beginning of HCG administration. Figure 6 shows in more detail the wall of a corpus luteum.

Six months later an exact duplication of this course of treatment was carried out in this animal. The 2nd ovary, removed nine days after the end of this injection series, weighed 1.42 gm. Multiple follicles had developed and many were luteinized, resembling structurally 10 to 12 day corpora lutea. Though they approached the surface of the ovary no stigmata were present. Stigmata from interim cycles were present and the one for the current cycle was recognizable, indicating that treatment had not interfered with normal ovulation.

A prepuberal monkey (Mm 887, 1 yr 9 mo, 3,120 gm), also, was induced to ovulate by injection of the monkey pituitary preparation supplemented by HCG, under conditions of treatment similar to those successful in the adults. This animal had shown no menarchal activity judged from lack of vaginal desquamation, sex skin

swelling or breast development. The 40% alcohol preparation made from monkey anterior pituitaries was injected in doses of 5 mg, twice daily, subcutaneously, for 6 days, followed by half this dose mixed with 800 IU HCG, given twice daily by the same route for the next 4 days. Laparotomy on the 2nd day after the last injection disclosed that one ovulation site was present in the left gonad beside several corpora lutea without surface defects indicating ovulation. Examination of the ovaries 7 days later showed multiple corpora lutea, but ovulation could be established to have occurred from only one corpus luteum contrasting with the multiple ovulation characteristic of the adult response (left ovary Fig. 12, arrow).

Ovulation was also successfully induced in one adult monkey by injection of monkey anterior pituitary material without the high dose of chorionic supplement. Mm 955 (7 years, 5,400 gm) was injected from the 5th day of the menstrual cycle, twice daily subcutaneously, with 5 mg of a 40% alcohol preparation for 9 days.¹ Both ovaries were removed the 4th day after termination of injection. They weighed approximately the same, 0.45 gm. Five corpora lutea, estimated to be less than 6 days old, were present. Coagulated fluid still clung to the stigmata of the corpora lutea (Fig. 7). The histological detail of a stigma from this ovary is shown in Fig. 8. Examination of the ovaries showed a few additional luteinized bodies from which the ova had not been discharged.

Although both adult and immature monkeys ovulated soon after addition of the luteinizing agent (HCG), it must be kept in mind that ovulation can occur without high terminal supplementary doses of this luteinizing agent. Chorionic gonadotrophin may not be effective in initiation of ovulation solely through its ability to epithelialize, or luteinize, the theca interna. The increased vascularity resulting from the chorionic supplement should be con-

¹ The dose of monkey pituitary preparation was somewhat higher in this animal (Mm 955) than in those listed in the table which had ovulated after receiving the chorionic supplement. In the five other adult monkeys which received monkey pituitary preparation without HGG supplement the absence of ovulation in two could be attributed to initiation of injection too late in the cycle, days 9 and 15 respectively. Normal ovulation, judged by the presence of a single young corpus luteum with open stigma, had occurred in these animals uninhibited by the excessive follicular growth induced. In the remaining two monkeys of this group the negative results might be attributed to the removal of the ovary too early in the cycle (day 12); collapsed follicles were present, but it was too early to be certain of corpus luteum formation.

sidered because this hormone is known to increase the blood supply to the ovary. It is known also that chorionic hormone, in some species at least, augments follicular response to simultaneously injected pituitary FSH. Furthermore the participation of the recipients's own pituitary must be kept in mind, as stimulation of the pituitary by the chorionic hormone modifies the physiological action in normal and hypophysectomized animals.

The primate source of the pituitary preparations used in these studies may have been an important factor in determining their effectiveness in the induction of ovulation. The recent success in promoting growth and metabolic changes in the monkey by injection of primate pituitary growth hormone, a result conspicuously lacking after injection of growth hormone from beef anterior pituitary, has been interpreted as due to species specificity of the hormone (KNOBIL and GREEP, 1956; KNOBIL, MORSE and GREEP, 1956). However, it must be remembered that induction of ovulation in the rhesus monkey has been reported by several workers following injection of gonadotrophins from heterologous species.

It has been possible also in this study to induce ovulation, both in prepuberal and adult rhesus monkeys, by injection of sheep pituitary gonadotrophins. An instance of successfully induced ovulation in the adult following injection of sheep pituitary FSH supplemented by HCG, is illustrated (Figs. 9, 10, 11). Mm 952 (7+ years, 6,800 gm) was injected from the 5th day of the menstrual cycle for 9 days with sheep pituitary FSH¹ in doses of 10 mg given twice daily for 5 days, followed by doses of 5 mg mixed with 800 IU HCG given twice daily for 4 days, all dosage being subcutaneous as in previous experiments. (Total FSH, 1800 RU, total HCG 6400 IU.) The ovaries were not removed until 5 days after termination of injection (18th day of the menstrual cycle) in order to give adequate time for ovulation and development of well formed corpora lutea. The two ovaries of this animal showed 1 and 3 stigmata, respectively. Well formed corpora lutea were present, estimated to be older than 6 days, again indicating that ovulation had followed immediately after onset of administration

¹ The sheep pituitary FSH and ICSH were prepared by ammonium sulphate and isoelectric fractionation of 40% alcohol extracts of acetone dried whole pituitaries.

of HCG. Photomicrographs are shown of sections of both ovaries in order to show that ovulation was multiple (Figs. 9 and 10). Details of the stigma in the left ovary are shown in Fig. 11.

Ovulation in a premenarchal monkey following injection of sheep pituitary FSH supplemented terminally by a large dose of luteinizing agent is exemplified by Mm 723 (1½ yr, 2040 gm). In this animal the pituitary luteinizing agent (ICSH)¹ was injected. The left ovary was removed at laparotomy on the 9th day after preliminary treatment with high dosage of FSH (50 mg twice daily for 8 days given subcutaneously). Ovulation was in progress from two follicles, one of which is shown in Fig. 13. Injection of FSH was continued at doses of 25 mg daily given subcutaneously for 4 more days and ICSH was given simultaneously once daily intraperitoneally in 10 mg doses. On the 13th day a single large dose of ICSH, 55 mg, was given intraperitoneally. A total of 4125 RU of FSH and 3600 RU of ICSH was injected. The right ovary, removed 48 hours after the terminal large dose of ICSH, contained 3 young corpora lutea with open stigmata. Details of the wall of one of the corpora lutea are shown in Fig. 14.

In yet another premenarchal monkey ovulation followed injection of sheep FSH, supplemented terminally by the pituitary luteinizing agent, ICSH, Mm 816 (1½ yr, 2,900 gm). At onset, this animal showed minimal sex skin swelling and no perianal swelling. The immature condition of the control ovary is shown in Fig. 15 (Left ovary 0.19 gm). A sheep pituitary preparation, predominantly follicle stimulating, was injected in 20 mg doses, twice daily, subcutaneously, for 10 days, totalling 2000 RU FSH. During the last 4 days the second sheep pituitary preparation, purified ICSH, was injected in doses of 25 mg twice daily, intraperitoneally, totalling 13,000 RU. During the 2 days between termination of injections of the gonadotrophins and autopsy, 30 mg of lactogenic hormone were injected twice daily subcutaneously, totalling 1500 IU.² The ovary removed the day after termination of injections (right, 0.91 gm) contained 10 large luteinized bodies, three of which are shown in Fig. 16. One of

¹ See note on page 813.

² No effect of lactogenic hormone was detected, either on the occurrence of ovulation or the formation of corpora lutea, in the two monkeys in which it was injected, Mm 878 and 816.

these had ovulated, a well formed stigma being present, shown in another level of the ovary in Fig. 17.

The doses of sheep pituitary FSH which successfully resulted in ovulation were large compared with those of monkey pituitary preparations. However, follicular growth did result in both adult and immature monkeys from adequate dosage of these sheep preparations, and it should be stressed that luteinization occurred on supplementation with luteinizing fractions either of pituitary or placental origin, and ovulation did result in some individuals, both adult and immature. Optimum conditions for induction of ovulation with heterologous pituitary hormones have not been determined. Under the conditions of injection used, false corpora lutea with enclosed ova resulted in many individuals, and frequently false corpora were observed scattered among corpora lutea of ovulation. With neither homologous nor heterologous gonadotrophins have the conditions been determined for induction of the normal number of ovulations typical of the species. Multiple ovulation has characterized the response of the monkey, just as superovulation has been characteristic of the response of other species to exogenous gonadotrophins.

The ovulations obtained bore no relation to the breeding season. Although these monkeys can ovulate and conceive throughout the year, it is generally believed that they breed more readily between September and May, in the northern hemisphere. Months in which ovulation was induced, in these studies, were: March—Mm 955, Mm 952; June—Mm 884 L; July—Mm 878; October—Mm 884 R; November—Mm 812.

SUMMARY

Ovulation has been induced in adult monkeys by injection of extracts of monkey anterior pituitaries supplemented terminally by human chorionic gonadotrophin. Ovulation followed immediately after the luteinizing supplement was added. The chorionic hormone though an important adjunct was not essential inasmuch as ovulation was induced by pituitary preparations without this supplement.

Although ovulation was more easily induced after injection of homologous pituitary material, sheep pituitary follicle stimulating

fractions, supplemented either by human chorionic hormone or pituitary interstitial cell stimulating hormone, were also effective in both adult and prepuberal monkeys.

In adult monkeys, ovulation induced by injection of gonadotrophins characteristically occurred from several follicles. This multiplicity of ovulation sites was useful in distinguishing between induced and normal cyclic ovulation. In the prepuberal monkey following similar treatment a single ovulation was significant.

EXPLANATION OF PLATES

PLATE I

Photomicrographs of ovaries of adult macaques treated with homologous anterior pituitary preparations. The animals in Figs. 1 to 6 had received supplementary treatment with human chorionic gonadotrophin (HCG); those in Figs. 7 and 8 no supplement. Hematoxylin and eosin stain.

- Fig. 1.* Mm 812, left ovary removed on the 15th day of menstrual cycle, 2nd day post-injection, showing one of the three stigmata of young corpora lutea (arrow). $\times 10$
- Fig. 2.* Mm 812, right ovary, 22nd day, 9th day post-injection, further development of corpora lutea; section shows one of the five stigmata, with protruding lutein tissue (ovary partially imbedded in adhesions). $\times 20$
- Fig. 3.* Mm 878, right ovary, 14th day, 2nd day post-injection, showing one stigma of the five ovulated follicles. $\times 10$
- Fig. 4.* Mm 878, left ovary, 20th day, 8th post-injection, showing three of the five corpora lutea, 10 to 12 days old, all with widely exposed luteal surfaces and outflowing tissue. $\times 20$
- Fig. 5.* Mm 884, left ovary, 16th day post-injection, 2 of 12 corpora lutea present are shown still open and with exuding sanguinous follicular fluid. $\times 15$
- Fig. 6.* Mm 884, same ovary as in Fig. 5, showing details of wall of corpus luteum. $\times 125$
- Fig. 7.* Mm 995, left ovary, removed on 17th day, 4th day post-injection, showing the open stigma of one of the four corpora lutea. Multiple ovulation occurred without chorionic supplement. $\times 13$
- Fig. 8.* Mm 955, right ovary, removed same day as left, showing detail of another stigma through which detached islands of mural tissue flow. $\times 125$

PLATE I

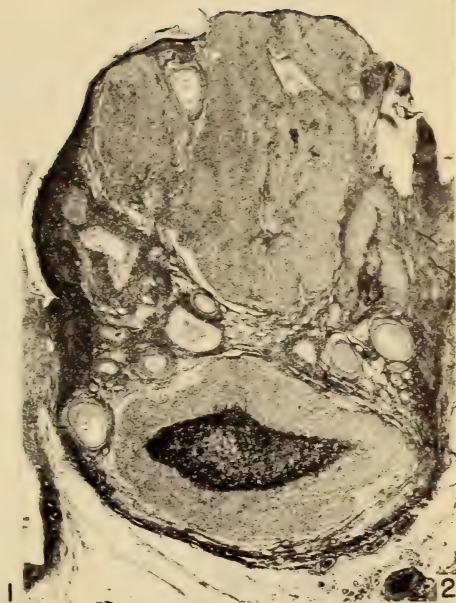
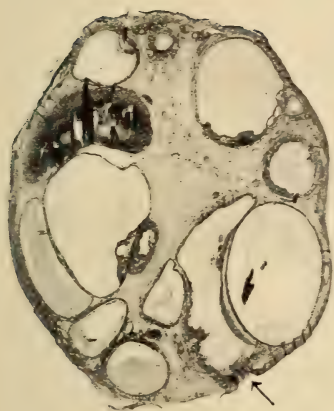
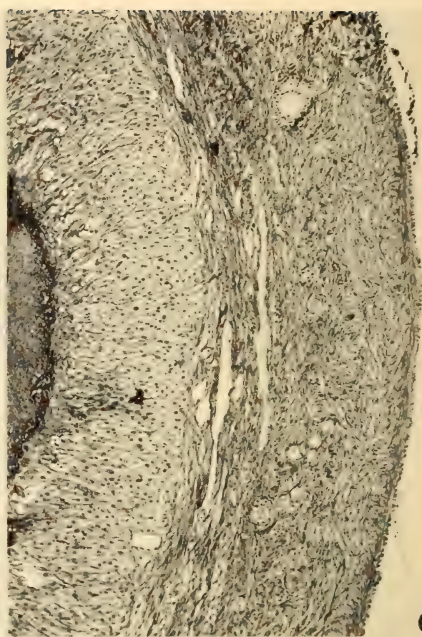


PLATE II



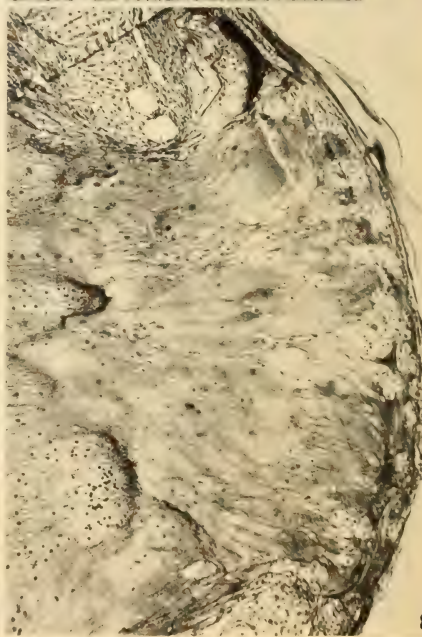
5



6



7



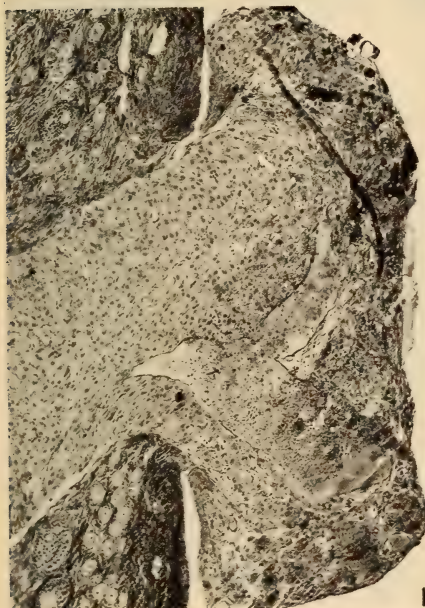
8



9



10



11



12

PLATE IV

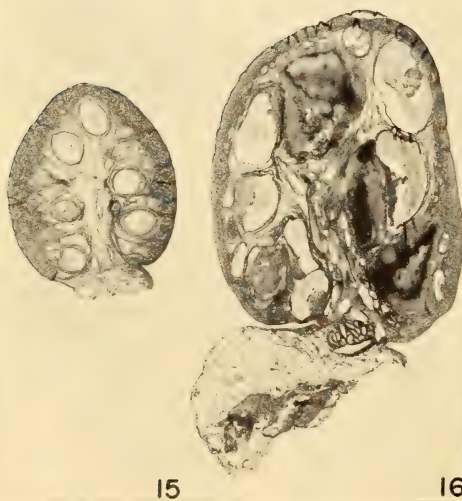
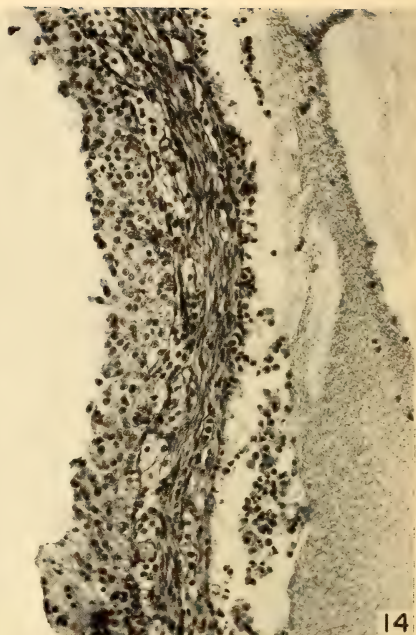
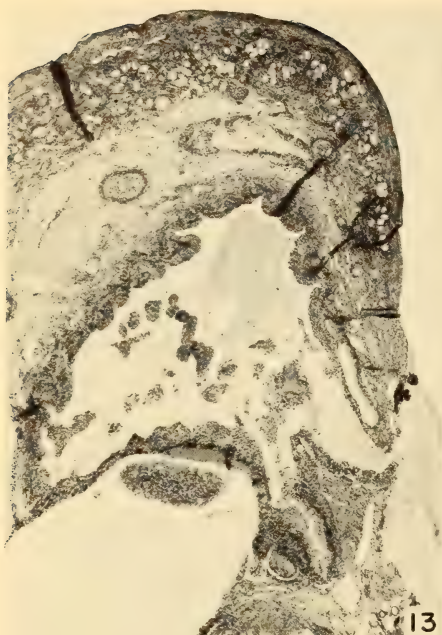


PLATE II

Photomicrographs of ovaries of adult and immature macaques induced to ovulate following injection of gonadotrophins. Hematoxylin and eosin stain.

- Fig. 9.* Mm 952, adult macaque treated with sheep FSH supplemented by HCG; left ovary, removed 18th day of menstrual cycle, 5th day post-injection, showing stigma of ovulated follicle. $\times 18$
- Fig. 10.* Mm 952, contralateral ovary, right, removed the same day, showing multiple corpora lutea of ovulation. $\times 18$
- Fig. 11.* Mm 952, detail of the stigma shown in Fig. 9. $\times 125$
- Fig. 12.* Mm 887, immature macaque, treated with monkey anterior pituitary preparation, supplemented by HCG; left ovary, 9th day post-injection, showing numerous corpora lutea; one plug of luteal tissue shows site of ovulation (arrow). $\times 16$
- Fig. 13.* Mm 723, immature macaque; treated 8 days with sheep pituitary FSH, ovary removed 9th day of injection at time of onset of supplement of ICSH; shows a recently ovulated follicle. $\times 46$
- Fig. 14.* Mm 723, contralateral ovary (right) removed 2nd day after termination of ICSH supplement, detail of wall of one of three corpora lutea of ovulation, showing granulosa and thecal luteinization. To the right lies the wall of a degenerating follicle. $\times 275$
- Fig. 15.* Mm 816, left ovary of immature monkey, removed at onset of the 10 day injection series of sheep pituitary FSH supplemented by ICSH. $\times 10$
- Fig. 16.* Mm 816, contralateral ovary (right) removed 3rd day post-injection, showing follicular enlargement and three well formed corpora lutea. $\times 10$
- Fig. 17.* Mm 816, detail at a different level of right ovary showing the single corpus luteum of ovulation. $\times 61$

LITERATURE CITED

- ALLEN, E. 1928. *Precocious sexual development from anterior hypophysis implants in a monkey*. Anat. Rec. 39: 315-323.
- CORNER, G. W. 1945. *Development, organization, and breakdown of the corpus luteum in the rhesus monkey*. Carnegie Inst. Wash., Contrib. to Embryol. 31: 117-146.
- COURRIER, R., R. KEHL and R. RAYNAUD. 1929. *Action des extraits hypophysaire et folliculaire chez la Guenon impubère*. Compt. rend. Soc. Biol. 101: 1093-1095.
- DE FREMERY, P. 1939. *The reaction of female monkeys to various types of gonadotropic extracts*. Quart. J. Exp. Physiol. 29: 203-215.
- ENGLE, E. T. 1933. *Biological differences in response of the female Macacus monkey to extracts of the anterior pituitary and of human pregnancy urine*. Am. J. Physiol. 106: 145-155.
- 1934. *Luteinization of the ovary of the monkey by means of combined use of anterior pituitary extract and an extract of pregnancy urine*. Endocrinology 18: 513-520.
- HARTMAN, C. G. 1938. *The use of gonadotropic hormones in the adult rhesus monkey*. Bull. Johns Hopkins Hosp. 63: 351-372.
- 1942. *Further attempts to cause ovulation by means of gonadotropes in the adult rhesus monkey*. Carnegie Inst. Wash., Contrib. to Embryol. 30: 111-126.
- HARTMAN, C. G. and R. R. SQUIER. 1931. *The follicle-stimulating effect of pig anterior lobe on the monkey ovary*. Anat. Rec. 50: 267-273.
- HISAW, F. L., H. L. FEVOLD and S. L. LEONARD. 1931. *Effects of hypophyseal extracts on sexually immature monkeys*. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 29: 204-206.
- HISAW, F. L., R. O. GREEP and H. L. FEVOLD. 1935. *Experimental ovulation of Macacus rhesus monkeys*. Anat. Rec. 61: Suppl. 24-25.
- KNOBIL, E. and R. O. GREEP. 1956. *Physiological effects of growth hormone of primate origin in the hypophysectomized monkey*. Fed. Proc. 15: 111.
- KNOBIL, E., A. MORSE and R. O. GREEP. 1956. *The effects of beef and monkey pituitary growth hormone on the costochondral junction in the hypophysectomized rhesus monkey*. Anat. Rec. 124: 320.
- VAN WAGENEM, G. and M. E. SIMPSON. 1957. *Induction of multiple ovulation in the rhesus monkey (Macaca mulatta)*. Endocrinology 61: 316-318.
-

Le problème des interrelations thyro-hypophysaires chez le fœtus et l'action du propylthiouracile sur la thyroïde fœtale du rat

par

Alfred JOST¹

(Laboratoire de Physiologie comparée, Faculté des Sciences,
Université de Paris)

Le problème des interrelations thyro-hypophysaires chez le fœtus de Mammifère a été abordé à l'aide de techniques diverses, sur des formes animales variées et comporte une bibliographie déjà considérable qu'il est impossible de passer en revue dans ce bref article. Ce problème peut d'ailleurs être considéré sous deux angles, selon que l'on envisage l'éveil des fonctions thyroïdienne et hypophysaire ou les relations fonctionnelles qui s'établissent ensuite entre les deux glandes et leurs hormones, durant la période ultime de la gestation. Seul ce dernier aspect sera examiné ici.

S'il existe entre la thyroïde et l'hypophyse, devenues fonctionnelles en fin de gestation, des influences réciproques conduisant à l'équilibre glandulo-humoral de COURRIER (1928), un excès d'hormone thyroïdienne en circulation dans l'organisme fœtal doit tendre à freiner la production de thyroestimuline et à favoriser la mise au repos de la glande thyroïde, alors qu'une déficience en hormone thyroïdienne devrait avoir l'effet inverse.

¹ Le présent travail est dédié à M^{lle} K. Ponse, Professeur d'Endocrinologie à l'Université de Genève, en témoignage d'admiration et de respectueuse amitié.

Un certain nombre de résultats expérimentaux sont venus corroborer une telle hypothèse, mais bien des questions restent encore en suspens.

* * *

Il est bon de rappeler tout d'abord que l'hypophyse et la thyroïde du fœtus renferment et probablement produisent les hormones que supposent les interrelations thyroéo-hypophysaires: on a décelé, en fin de gestation, de la thyroostimuline dans l'hypophyse fœtale (RUMPF et SMITH, 1929, porc; PETROVIC et ARON, 1955, cobaye; CONTOPOULOUS et SIMPSON, 1957, rat), et dans le sang fœtal (ARON, 1931, plusieurs espèces).

D'autre part la thyroïde fœtale donne des signes évidents d'activité fonctionnelle, puisqu'elle concentre l'iode I^{131} circulant (GORBMAN et EVANS, 1943, rat; CHAPMAN, CORNER, ROBINSON et EVANS, 1948, homme; JOST, MOREL et MAROIS, 1949, lapin; etc.), et qu'on trouve dans le tissu thyroïdien fœtal des hormones comparables à celles existant chez l'adulte (bibliographie in GELOSO 1956; ou in WATERMAN et GORBMAN, 1956).

Il est plus difficile de préciser dans quelle mesure la thyroïde fœtale secrète effectivement ses hormones dans le sang. On sait cependant que la thyroïde du fœtus de lapin, après avoir fixé rapidement de l'iode radioactif mis à sa disposition, libère et sans doute métabolise la plus grande partie de cet iode, dans les 24 heures qui suivent (JOST, MOREL et MAROIS, 1949).

Le contenu en substances iodées du sang fœtal reflète non seulement l'activité thyroïdienne, mais aussi celle du placenta (JOST, 1953a) dont le rôle pourrait fort bien n'être pas seulement celui d'un filtre passif mais d'un organe de concentration (NATAF, SFEZ, MICHEL et ROCHE, 1956a).

La perméabilité du placenta aux hormones thyroïdiennes de la mère est d'ailleurs encore relativement mal connue. Si certains auteurs estiment que le placenta est perméable à la thyroxine (cf. PETERSON et YOUNG, 1952, cobaye) ou à la triiodothyronine (NATAF, SFEZ, MICHEL et ROCHE, 1956b, rat), d'autres insistent sur sa faible perméabilité aux hormones thyroïdiennes (COURRIER et ARON, 1929, chien), à la thyroxine (GRUMBACH et WERNER, 1956, homme; HALL et MYANT, 1956, lapin) ou à la triiodothyronine (POSTEL, 1957, cobaye).

Quoi qu'il en soit, le coefficient de partage des substances iodées entre les hématies et le plasma (rapport $\frac{H}{P}$) est élevé chez le fœtus de lapin (COURRIER et ZIZINE, 1957). Ce fait pourrait se comprendre si le sang fœtal contenait une proportion élevée d'iodures ou de composés iodés traversant la membrane des hématies et une quantité relativement faible d'hormones thyroïdiennes (ne pénétrant pas dans les hématies), hypothèse compatible avec ce que l'on sait de la physiologie du placenta (NATAF et coll. 1956a) et de la répartition des composés iodés dans le sang du fœtus de veau (GORBMAN, LISSITZKY, MICHEL, MICHEL et ROCHE, 1952).

* * *

L'étude des relations thyro-hypophysaires chez le fœtus a fait l'objet de tentatives diverses, consistant à modifier l'équilibre endocrinien fœtal:

1° On a fait varier le *taux de thyroestimuline* présent chez le fœtus.

L'administration au fœtus de thyroestimuline exogène, et donc en excès, provoque une hypertrophie des thyroïdes (ARON, 1933, cobaye; SETHRE et WELLS, 1951, rat).

La suppression de l'hypophyse fœtale introduit un retard dans le développement morphologique de la thyroïde (FUGO, 1940, pour le poulet; JOST, 1953, pour le lapin et le rat; voir aussi fig. 1 B et 2 A).

L'absence de l'hypophyse retentit aussi sur l'activité physiologique de la glande qui capte moins d'iode radioactif que chez le fœtus entier (JOST, MOREL, MAROIS, 1949, 1952 pour le lapin)¹ et synthétise moins d'hormones thyroïdiennes (GELOSO, 1956, chez le rat). L'administration de thyroestimuline au fœtus de rat décapité prévient cette déficience fonctionnelle (GELOSO, inédit).

Ces résultats rendent hautement probable que le placenta de lapin ou de rat ne laisse guère passer de thyroestimuline d'origine maternelle. D'ailleurs chez des cobayes thyroïdectomisées, l'injection de thyroestimuline à la mère ne stimule pas les thyroïdes fœtales (PETERSON et YOUNG, 1952).

¹ VIVIEN et RECHENMANN (1954) ont fait une observation comparable sur l'embryon de Sélacien.

2° On a fait varier le *taux d'hormones thyroïdiennes* présentes chez le fœtus.

On a essayé de surcharger l'organisme fœtal en hormones thyroïdiennes pour voir s'il était possible de provoquer ainsi une mise au repos de sa thyroïde. Des résultats nettement positifs ont été enregistrés chez le poulet (BOOKER et STURKIE, 1949); chez les Mammifères, après injection d'hormones à la mère, les résultats ont été plus contradictoires (voir par exemple: ARON et COURRIER, 1929; PETERSON et YOUNG, 1952; POSTEL, 1957), soit parce que la perméabilité placentaire aux hormones thyroïdiennes est relativement faible, soit parce que certaines hormones de l'adulte sont rapidement détruites dans l'organisme fœtal (POSTEL, 1957), soit enfin parce que les hormones les plus actives chez le fœtus ne se présentent peut-être pas sous une forme chimique absolument identique à celle des hormones de l'adulte.

On a également essayé de diminuer la teneur de l'organisme fœtal en hormones thyroïdiennes.

Une première méthode consiste à supprimer la thyroïde de la mère: cette opération tarit l'apport maternel et devrait favoriser la fuite transplacentaire des sécrétions fœtales. Mais selon NIKITOVITCH et KNOBIL (1955), contrairement à diverses observations anciennes, la thyroïdectomie de la mère ne provoque pas d'hypertrophie pondérale de la thyroïde du fœtus de rat et selon COURRIER et ZIZINE (1957) elle ne provoque pas de chute du coefficient de partage $\frac{H}{P}$ du lapin. De même l'hypophysectomie de la mère n'affecte pas la structure de la thyroïde fœtale (HEGGESTAD et WELLS, 1954; NIKITOVITCH et KNOBIL, 1955).

Les effets de la thyroïdectomie maternelle sur la physiologie thyroïdienne du fœtus demandent cependant à être encore examinés de plus près, avec des méthodes physiologiques et biochimiques appropriées.

L'emploi d'antithyroïdiens fournit une autre méthode permettant de perturber la physiologie thyroïdienne. De nombreuses expériences ont en effet montré depuis le travail de HUGHES (1944) que les antithyroïdiens donnés à la mère provoquent une hypertrophie considérable de la thyroïde des fœtus (voir par exemple: GOLDSMITH, GORDON et CHARRIPER, 1945; NIKITOVITCH et KNOBIL, 1955; PETERSON et YOUNG, 1952; POSTEL, 1957).

Trois sortes d'explications peuvent rendre compte de cette action des antithyroïdiens (cf. GOLDSMITH, GORDON et CHARRIPER, 1945; PETERSON et YOUNG, 1952): 1^o le passage transplacentaire d'une quantité accrue de thyroestimuline maternelle; 2^o la réduction du taux des hormones thyroïdiennes maternelles entraînant, par un moyen ou un autre, une surproduction hormonale chez le fœtus, qui subviendrait aux besoins de la mère; 3^o une action directe de l'antithyroïdien sur la thyroïde du fœtus, entraînant une réaction de l'hypophyse fœtale.

Deux types d'observations rapportées en 1955 permettaient de préciser un peu les modalités de l'action des antithyroïdiens chez le fœtus. J'indiquais que le propylthiouracile n'agit pas sur la thyroïde du fœtus si celui-ci est privé de son hypophyse, ce qui suggère nettement que l'hypophyse fœtale est un chaînon de cette action (JOST, 1955); d'autre part NIKITOVITCH et KNOBIL (1955) montraient que l'hypophysectomie de la mère n'empêche pas l'antithyroïdien de stimuler les thyroïdes fœtales et concluaient de leur côté que l'hypophyse fœtale est en cause. Rappelons d'ailleurs que PETERSON et YOUNG avaient observé une hypertrophie de l'hypophyse chez les fœtus de cobaye soumis aux antithyroïdiens.

Après de nouvelles expériences, j'ai récemment insisté à nouveau sur le rôle de l'hypophyse fœtale dans la réaction de la thyroïde fœtale du rat au propylthiouracile administré à la mère (JOST, 1957), et je voudrais revenir sur ces faits dans la présente note.

* * *

Le schéma de l'expérience est le suivant: 17 ou 18 jours après la découverte des spermatozoïdes dans le vagin, un ou deux fœtus de la portée sont partiellement décapités, selon notre technique antérieure, en enlevant seulement le haut de la tête dans le prolongement de la fente buccale (JOST, MOREL et MAROIS, 1949; JOST, 1953*b*). Sous la langue et la mâchoire inférieure laissées en place, la thyroïde n'est donc pas au voisinage immédiat de la région traumatisée. Le traitement de la mère au propylthiouracile (25 à 60 mg p.j. en suspension aqueuse, par voie orale ou parfois parentérale) est commencé quelques heures avant l'opération ou la veille. D'autres fœtus ont été décapités chez des mères non traitées

par le propylthiouracile. La thyroïde a été prélevée au stade de 20 ou 21 jours, et étudiée sur coupes histologiques, après fixation au liquide de BOVIN.

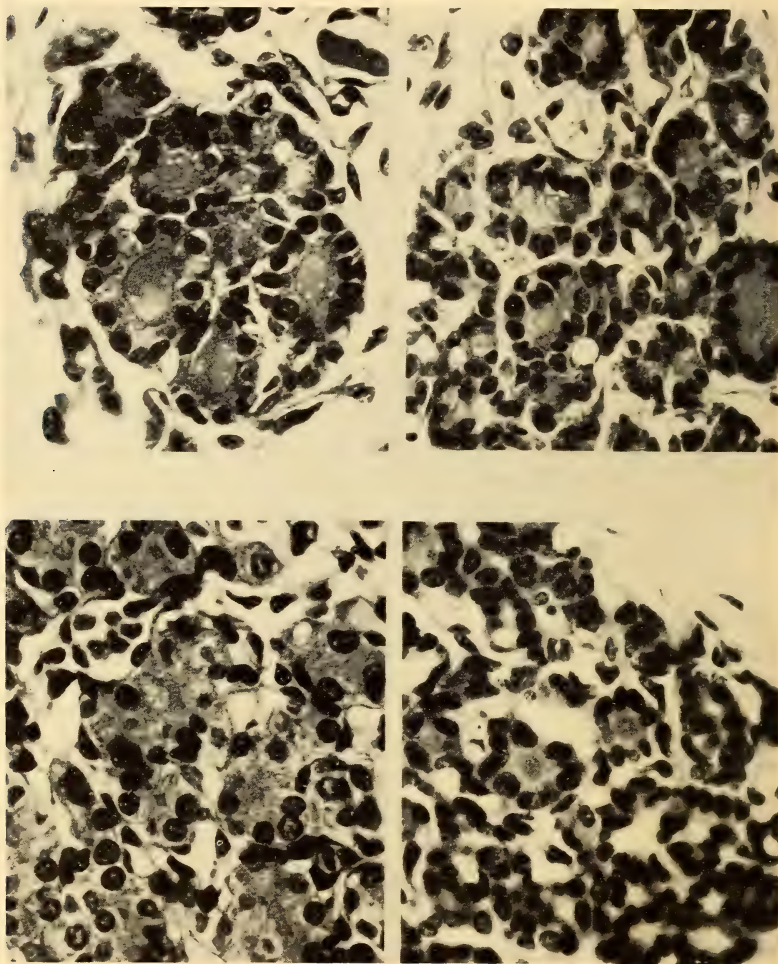


FIG. 1

Coupes des thyroïdes de 4 fœtus de rat de 21 jours.

- A) fœtus entier provenant d'une rate non traitée; B) fœtus de la même portée, décapité à 18 jours et demi; C) fœtus entier provenant d'une rate qui a reçu 75 mg de propylthiouracile; D) fœtus décapité de la même portée ($\times 600$).

L'étude a porté sur les thyroïdes de 10 fœtus décapités et de leurs témoins, provenant de femelles normales, et sur les fœtus de 12 femelles traitées par le propylthiouracile, dont 20 avaient été décapités.

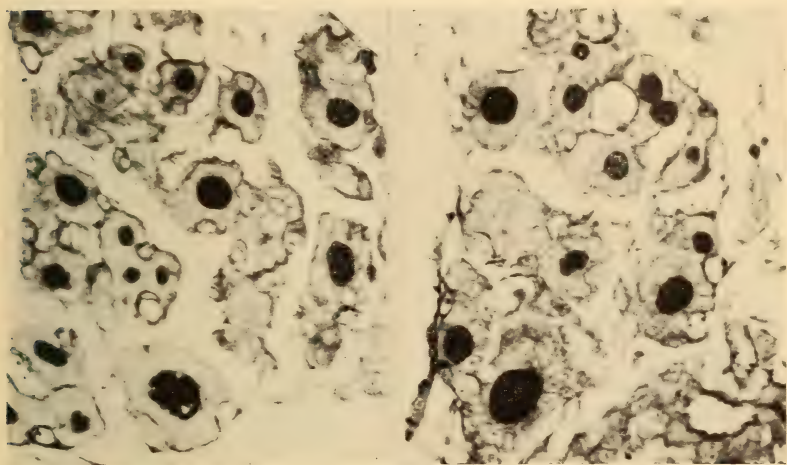


FIG. 2

Coupes des thyroïdes de 2 fœtus de rat décapités à 18 jours et demi et sacrifiés à 21 jours.

A) mère non traitée; B) mère qui a reçu 50 mg de propylthiouracile.

La coloration selon MacManus met bien la colloïde en évidence; l'aspect est très voisin dans les deux glandes ($\times 500$).

En fin de gestation (stades de 20 et 21 jours) la thyroïde du fœtus de rat est bien différenciée et comporte un grand nombre de follicules plus ou moins bien pourvus en colloïde selon les animaux, et probablement selon l'alimentation de la mère (peut-être aussi selon la saison?).

Chez les fœtus décapités à 17 ou à 18 jours, alors que l'ébauche thyroïdienne est encore rudimentaire (cf. GORBMAN et EVANS, 1943), l'organogenèse de la thyroïde n'est pas bloquée, comme nous l'avions déjà signalé antérieurement (Jost, 1953*b*): des follicules thyroïdiens se différencient et accumulent de la colloïde; mais la glande offre des signes évidents d'un développement anormal tels qu'une forte réduction de sa taille et du nombre des follicules différenciés qu'elle contient. Les follicules les mieux déve-

loppés ont un épithélium relativement pauvre en cytoplasme et renferment une assez grande quantité de colloïde, dont la présence est assez constante, quelle que soit la richesse en colloïde des glandes des fœtus témoins de la même portée.

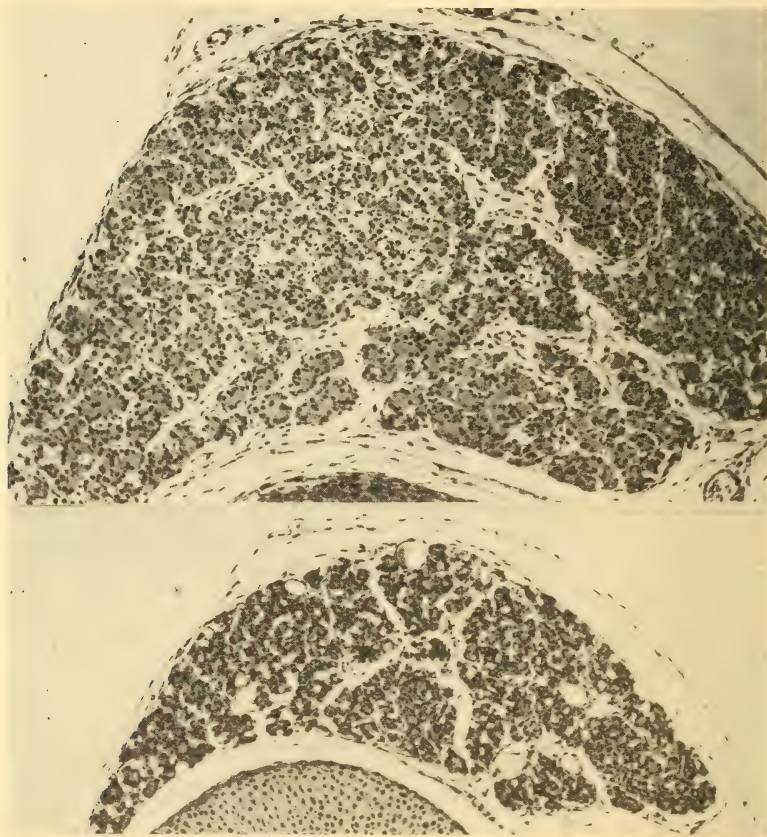


FIG. 3

Coupes à faible grossissement des thyroïdes de deux fœtus de la même portée, dont la mère a été traitée par le propylthiouracile. En haut fœtus entier, en bas, fœtus décapité (mêmes glandes que celles figurées sur la fig 1 C et 1 D) ($\times 100$).

Un contraste encore plus frappant est présenté par les thyroïdes des fœtus entiers ou décapités, lorsque la mère a été traitée par le propylthiouracile: les thyroïdes des fœtus entiers montrent seules l'hypertrophie, maintenant classique, des glandes fœtales

soumises à l'antithyroïdien: grand nombre de petits follicules plus ou moins complètement dépourvus de colloïde, épithélium très riche en cytoplasme, organisation parfois désordonnée. Les thyroïdes des fœtus décapités sont au contraire petites et mal développées, comme elles le sont en l'absence de l'antithyroïdien (fig. 1 et 2). Un examen cytologique et biométrique serait nécessaire pour préciser s'il existe ou non des différences mineures dans la structure thyroïdienne des fœtus décapités, selon que l'antithyroïdien est ou non administré à la mère ¹.

Quoi qu'il en soit, ces faits permettent d'être sûr que la présence de l'hypophyse du fœtus est indispensable à l'hypertrophie des thyroïdes fœtales sous l'action des antithyroïdiens.

* * *

En présence de ce fait on peut supposer que l'antithyroïdien agit sur la biosynthèse des hormones thyroïdiennes fœtales, et qu'en l'absence de celles-ci l'hypophyse fœtale sécrète un taux anormalement élevé de thyroostimuline. Cette étude du mécanisme d'action des antithyroïdiens vient donc, comme les recherches déjà faites sur le fonctionnement thyroïdien de fœtus décapités de lapin (JOST, MOREL et MAROIS, 1949, 1952) ou de rat (GELOSO, 1956), plaider en faveur de l'existence de relations thyroé-hypophysaires au sein de l'organisme fœtal.

L'ensemble des observations révèle une certaine indépendance de la physiologie thyroïdienne du fœtus par rapport à celle de sa mère, comme l'avait supposé ARON (1931). On retiendra à ce sujet qu'il est difficile de s'opposer à l'action des antithyroïdiens sur la thyroïde fœtale, en injectant à la mère de la thyroxine (PETERSON et YOUNG, 1952, rat; KEYNES, 1952, homme) ou de la triiodothyronine (POSTEL, 1957, cobaye.)

Des études précises sont cependant encore nécessaires pour déterminer l'étendue et la signification des interrelations thyroïdiennes materno-fœtales, et pour résoudre le problème des rôles respectifs joués dans la physiologie du fœtus par les hormones produites par la thyroïde fœtale et par celles qui peuvent provenir de la mère.

¹ De telles différences, si elles existent, pourraient s'expliquer soit par une action directe du propylthiouracile sur la thyroïde soit par le passage trans-placentaire de traces de thyroostimuline maternelle.

BIBLIOGRAPHIE

Les travaux cités dans le texte et dont les références sont indiquées ici, permettront de rétablir une bibliographie à peu près complète de la question.

- ARON, M. 1931. *Recherches histophysiologiques sur le fonctionnement et les corrélations des glandes endocrines embryonnaires chez les Vertébrés*. Bull. Biol. Fr. et Belg. 65: 438.
- 1933. *Expériences d'injections d'extrait préhypophysaire au fœtus de Cobaye in utero. Action sur la thyroïde*. C. R. Soc. Biol. 113: 446.
- CHAPMAN, E. M., G. W. CORNER, D. ROBINSON et R. D. EVANS. 1948. *The collection of radioactive iodine by the human fetal thyroid*. J. Clin. Endocrinol. 8: 717-720.
- CONTOPOULOS, A. N. et M. E. SIMPSON. 1957. *Presence of trophic hormones in fetal rat hypophysis*. Federation Proceed. 16: n° 103.
- COURRIER, R. 1928. *Action de l'ingestion de corps thyroïde sur le thymus, sur le testicule et sur la thyroïde*. Revue Franç. Endocrinol. 6: 10.
- et M. ARON. 1929. *Sur le passage de l'hormone thyroïdienne de la mère au fœtus à travers le placenta*. C. R. Soc. de Biol. 100: 839-841.
- et L. ZIZINE. 1957. *Remarques sur le fonctionnement de la thyroïde fœtale*. C. R. Acad. Sc. 245: 258-261.
- FUGO, N. W. 1940. *Effects of hypophysectomy in the chick embryo*. J. Exp. Zool. 85: 271-298.
- GELOSO, J. P. 1956. *Recherches sur le métabolisme de l'iode radio-actif par la thyroïde du fœtus de rat*. C. R. Soc. Biol. 150: 2140.
- GOLDSMITH, E. D., A. S. GORDON and N. A. CHARRIPER. 1945. *An analysis of the effects of continued thiourea treatment in pregnancy and on development of the offspring in the rat*. Am. J. Obst. Gynecol. 49: 197-206.
- GORBMAN, A. and H. M. EVANS. 1943. *Beginning of function in the thyroid of the fetal rat*. Endocrinology 32: 113.
- S. LISSITZKY, Od. MICHEL, R. MICHEL and J. ROCHE. 1952. *Metabolism of radio iodine by near term bovine fetus*. Endocrinology 51: 546-561.
- GRUMBACH, M. M. and S. C. WERNER. 1956. *Transfer of thyroid hormone across the human placenta at term*. J. Clin. Endocrinol. Metabol. 16: 1392-1394.
- HALL, P. F. and N. B. MYANT. 1956. *Passage of exogenous thyroxine and of iodine between mother and foetus in pregnant rabbits*. J. Physiology 133: 181-193.

- HEGGESTAD, C. B. and L. J. WELLS. 1954. *Lack of compensatory changes in the developing thyroid in fetal rats from hypophysectomized mothers*. Anat. Rec. 118: 389 (abstract).
- JOST, A. 1953a. *Problems of fetal endocrinology: The gonadal and hypophyseal hormones*. Recent Progress in Hormone Research 8: 379-418.
- 1953b. *Sur le développement de la thyroïde chez le fœtus de lapin décapité*. Arch. Anat. microsc. et Morphol. expérim. 42: 168-181.
- 1955. *L'analyse expérimentale de l'Endocrinologie fœtale*. In *Probleme der Fetalen Endokrinologie*. 3. Symposion der Deutschen Gesellschaft f. Endokrinologie (mars 1955). Springer, 1956, 14-38.
- 1957. *Action du propylthiouracile sur la thyroïde de fœtus de rats intacts ou décapités*. C. R. Soc. de Biol. 151: (sous presse).
- F. F. MOREL et M. MAROIS. 1949. *Données préliminaires sur la fixation de radio-iode I^{131} par la thyroïde fœtale du lapin*. C. R. Soc. de Biol. 143: 142-145.
- F. F. MOREL et M. MAROIS. 1952. *Nouvelles recherches à l'aide du radio-iode I^{131} sur la fonction thyroïdienne du fœtus de lapin décapité*. C. R. Soc. de Biol. 146: 1066-1070.
- NATAF, B., M. SFEZ, R. MICHEL et J. ROCHE. 1956a. *Métabolisme des iodures chez les Rattes gestantes et les fœtus. Concentration de l'iode radioactif par le placenta*. C. R. Soc. Biol. 150: 324-327.
- M. SFEZ, R. MICHEL et J. ROCHE. 1956b. *Sur la perméabilité du placenta à la 3: 5: 3'-triiodothyronine*. C. R. Soc. Biol. 150: 1088-1090.
- NIKITOVITCH, M. and E. KNOBIL. 1955. *Placental transfer of thyrotropic hormonal in the Rat*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 15: 837.
- PETERSON, R. R. and W. C. YOUNG. 1952. *The problem of placental permeability for thyrotropin, propylthiouracyl and thyroxine in the guinea-pig*. Endocrinology fev. 52, 50: 218-225.
- PETROVIC, A. et M. ARON. 1955. *Action thyroïdienne chez le Cobaye, d'homotransplants intra-thyroïdiens de préhypophyse de fœtus, en fonction de l'âge du donneur*. C. R. Soc. de Biol. 149: 1030.
- POSTEL, Sh. 1957. *Placental transfer of perchlorate and triiodothyronine in the guinea-pig*. Endocrinology 60: 53-66.
- RUMPF, P. and P. E. SMITH. 1926. *The first occurrence of secretory products and of a specific structural differentiation in the thyroid and the anterior pituitary during the development of the pig foetus*. Anat. Rec. 33: 289-298.

- SETHRE, A. E. and L. J. WELLS. 1951. *Accelerated growth of the thyroid in normal and hypophysectomized fetal rats given thyrotrophin*. Endocrinology 49: 369.
- VIVIEN, J. et R. RECHENMANN. 1953-54. *Etude sur la fonction thyroïdienne de l'embryon de Sélacien*. C. R. Soc. de Biol. 148: 170.
- WATERMAN, A. J. and A. GORBMAN. 1956. *Development of the thyroid gland of the rabbit*. J. exp. Zool. 132: 509-538.
-

N° 23.	H.-A. GUÉNIN. Contribution à la connaissance cytologique des Scorpions: les chromosomes de <i>Pandinus imperator</i> Koch. Avec 9 figures dans le texte	349
N° 24.	Margarethe GHRR. Zur Entwicklung des Hechtes. Mit 63 Textfiguren	355
N° 25.	Hermann GISIN. Sur la faune européenne des Collemboles I. Avec 13 figures dans le texte	475
N° 26.	P. GEIER. Observations sur les parasites du Carpocapse (<i>Cydia pomonella</i> L.) près de Genève. Avec 19 figures dans le texte	497
N° 27.	Jean-Luc PERRET. Un nouveau <i>Phrynobatrachus</i> du Cameroun. Avec 2 figures dans le texte	527
N° 28.	F. E. LEHMANN. Die Schwanzregeneration der <i>Xenopus</i> -Larve unter dem Einfluss phasenspezifischer Hemmstoffe. Mit 2 Textabbildungen	533
N° 29.	Jean-G. BAER. Trématodes et Cestodes récoltés en Côte d'Ivoire, avec remarques sur la famille des <i>Dicrocoeliidae</i> Odhner et sur les parasites des Damans. Avec 14 figures dans le texte	547
N° 30.	J. BENOIT. Radiations lumineuses et activité sexuelle du Canard. Histoire d'une recherche	577
N° 31.	R. COURRIER. Greffes et reliquats hypophysaires	589
N° 32.	R. K. BURNS and Lucile M. BURNS. Observations on the breeding of the American opossum in Florida	595
N° 33.	Jacques DE BEAUMONT. <i>Bembix turca</i> Dahlb. et <i>flavescens</i> Sm. (Hym. Sphecid.)	607
N° 34.	Anne-Marie DU BOIS. L'intoxication alloxanique chez la femelle gravide de Cobaye. 3. Effets de l'alloxane sur le foie de la mère et du fœtus	625
N° 35.	Edw. FLÜCKIGER. Der Elektrolytstoffwechsel des Diaphragma nach Adrenalectomie und seine Beeinflussung durch Corticosteroide	651
N° 36.	L. GALLIEN. La dissociation medullo-corticale dans l'organogenèse des glandes génitales des amphibiens et le problème des gonades vestigiales chez certains vertébrés	665
N° 37.	Roger GUILLEMIN. Sur le rôle de la Vasopressine comme Médiateur possible de la Décharge d'ACTH	673
N° 38.	B. BENGTSSON, Monique ETIENNE, Dora JACOBSON and A. NORGREN. Effect of extrahypophysial gonadotrophins on the mammary glands of hypophysectomized rats injected with insulin.	685
N° 39.	M.-F. JAYLE, Ph. GENET, L. PUJOL, S. VANDEL. Pouvoir cœstrogène et activité lutéotrophique de différents produits de synthèse	699
N° 40.	Robert MATTHEY. Cytologie comparée et Taxonomie des <i>Chamaeleontidae</i> (<i>Reptilia-Lacertilia</i>). Avec 30 figures dans le texte	709
N° 41.	Evelina ORTIZ, Eva R. BROWN and Bruce E. WILEY. The relation of male hormone to phosphatase activity in the seminal vesicle of the guinea pig	733
N° 42.	Dorothy PRICE and Dwight J. INGLE. Androgenic effects of autotransplants of adrenals in the accessory reproductive glands of adult castrated rats	743
N° 43.	Hans SELYE. Effect of sex hormones upon hypervitaminosis-A	757
N° 44.	Georges-H. WERNER. Données récentes sur la virologie de la rougeole et de certains autres exanthèmes	763
N° 45.	E. CHAROLLAIS, O. LIBERT, M. PERRET et D. ROSENBUSCH-WEIHS. Contribution à l'étude de la surrénalectomie du Cobaye	773
N° 46.	L. G. HUIS IN'T VELD. Influence de la fonction endocrine du testicule sur l'excrétion de 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine chez l'Homme	789
N° 47.	G. van WAGENEN and Miriam E. SIMPSON. Experimentally induced Ovulation in the Rhesus Monkey (<i>Macaca mulatta</i>)	807
N° 48.	Alfred JOST. Le problème des interrelations thyroïdohypophysaires chez le fœtus et l'action du propylthiouracile sur la thyroïde fœtale du Rat	821

PUBLICATIONS
DU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

En vente chez GEORG & Cie, libraires à Genève.

CATALOGUE DES INVERTÉBRÉS DE LA SUISSE

Fasc. 1.	SARCODINÉS par E. PENARD	Fr. 12.50
Fasc. 2.	PHYLLOPODES par Th. STINGELIN	» 12.50
Fasc. 3.	ARAIGNÉES par R. DE LESSERT	» 40.—
Fasc. 4.	ISOPODES par J. CARL	» 8.—
Fasc. 5.	PSEUDOSCORPIONS par R. DE LESSERT	» 5.50
Fasc. 6.	INFUSOIRES par E. ANDRÉ	» 18.—
Fasc. 7.	OLIGOCHÈTES par E. PIGUET et K. BRETSCHER	» 18.—
Fasc. 8.	COPÉPODES par M. THIÉBAUD	» 18.—
Fasc. 9.	OPILIONS par R. DE LESSERT	» 11.—
Fasc. 10.	SCORPIONS par R. DE LESSERT	» 3.—
Fasc. 11.	ROTATEURS par E.-F. WEBER et G. MONTET	» 36.—
Fasc. 12.	DÉCAPODES par J. CARL	» 11.50
Fasc. 13.	ACANTHOCÉPHALES par E. ANDRÉ	» 11.—
Fasc. 14.	GASTÉROTRICHES par G. MONTET	» 18.—
Fasc. 15.	AMPHIPODES par J. CARL	» 12.50
Fasc. 16.	HIRUDINÉES, BRANCHIOBELLES et POLYCHÈTES par E. ANDRÉ	— » 17.—
Fasc. 17.	CESTODES par O. FUHRMANN	» 30.50
Fasc. 18.	GASTÉROPODES par G. MERMOD	» 55.—

LES OISEAUX DU PORT DE GENÈVE EN HIVER

par F. DE SCHAECK

Avec 46 figures dans le texte.

Fr. 7.—

En vente au Muséum d'Histoire naturelle de Genève.

CATALOGUE ILLUSTRÉ
DE LA COLLECTION LAMARCK
appartenant au
MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

1^{re} partie. — FOSSILES
1 vol. 4^o avec 117 planches.

Fr. 300.—

IMPRIMÉ EN SUISSE

5-90.5494
(54)

BULLETIN-ANNEXE
DE LA
REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE
(TOME 64)

Juin 1957

Assemblée générale
de la Société suisse de zoologie

siégeant à Genève, à l'Université, les 13 et 14 avril 1957
sous la présidence de

M. E. Dottrens

SÉANCE ADMINISTRATIVE
Samedi 13 avril 1957



Le président ouvre la séance à 11 h. 20, par quelques mots de bienvenue aux membres déjà présents et regrette que la date choisie n'ait malheureusement pas convenu à tous, puis il donne lecture de son rapport pour l'année 1956.

1. RAPPORT PRÉSIDENTIEL POUR L'ANNÉE 1956

Membres.

A fin décembre 1956, notre société comptait 218 membres. Nous avons enregistré la démission de M. U. Weidmann. En outre, appliquant l'article 18 de nos statuts, nous proposons de radier plusieurs membres qui n'ont pas donné suite aux rappels de notre trésorier. En revanche, nous aurons le plaisir de vous soumettre les candidatures de 11 membres nouveaux.

SEP 16 1957

Sept de nos membres atteignent cette année 40 ans de sociétariat. Ce sont par ordre alphabétique MM. A. Blome, R. Dohrn, A. Huber, R. Müller, H. Steiner, W. Schmassmann et P. Vonwiller. Permettez-moi d'adresser à ces collègues si fidèles nos respectueuses félicitations et d'exprimer le vœu de les compter longtemps encore dans nos rangs. Parmi ces membres, je voudrais faire une place à part au professeur H. Steiner qui ajoute au mérite commun à ces vétérans celui plus grand encore de l'assiduité à nos séances. Qu'il veuille bien accepter nos compliments les plus cordiaux.

Le 19 février 1957, à Berne, notre collègue le professeur H. Blüntschi fêtait son 80^e anniversaire. Une manifestation en son honneur eut lieu au cours d'une séance de la Société bernoise d'histoire naturelle. Ne pouvant y assister, nous avons adressé à ce vénérable collègue un télégramme avec d'autant plus de plaisir que le professeur Blüntschi se trouvait en même temps jubilaire de notre société puisqu'il fut admis en 1907. Nous réitérons ici à notre jubilaire nos bien sincères félicitations.

Activité scientifique.

L'assemblée générale a eu lieu à Fribourg les 28 et 29 avril 1956 sous la présidence du professeur J. Kälin. Nous avons entendu dix-sept communications de membres et deux conférences. La première du professeur R. Geigy: « Beziehungen zwischen Erreger und Überträger in der Epidemiologie des afrikanischen Rückfallfiebers », était agrémentée d'un film instructif. La seconde: « Le problème des causalités évolutives » fut prononcée par le professeur J. Piveteau, de la Sorbonne. Les communications et le résumé de la conférence Geigy ont fourni la matière du second fascicule du tome 63 de la *Revue suisse de zoologie*.

La 136^e session annuelle de la S.H.S.N. s'est tenue à Bâle du 22 au 24 septembre 1956, elle fut un remarquable succès. Notre société a tenu séance commune avec la Société entomologique présidée par le professeur Handschin. Nous y avons entendu des communications de plusieurs de nos membres. Ce sont M^{mes} R. Lotmar, Zurich et S. Bloch, Bâle, MM. E. M. Lang et H. Wackernagel, Bâle, P. Tschumi, Cambridge, G. Andrès, Tübingen, M. Lüscher, et W. Buser Berne. Le professeur E. Hadorn prononça une conférence très remarquée sur ce sujet: « Erbkonstitution und Merkmalsbildung ».

Revue suisse de Zoologie.

Le tome 63 paru en 1956 comprend 716 pages et contient 32 travaux originaux.

Subsides.

Le subside fédéral heureusement porté à 4.500 francs et versé à la *Revue suisse de Zoologie* permet d'alléger quelque peu les frais de publication trop lourds pour certains auteurs, les jeunes en particulier. Notre société a en outre versé les subsides habituels de 600 francs à la *Revue* et 200 francs à la Station ornithologique de Sempach.

Station ornithologique de Sempach.

Le rapport du directeur, Dr A. Schifferli, signale parmi diverses activités une campagne d'observation au Parc national par un groupe d'ornithologues dirigé par le Dr Schifferli lui-même.

5000 oiseaux ont été bagués en 1956, ce qui constitue un record. 6000 visiteurs ont été enregistrés à la Station. 40 exposés ont été présentés. La Station a commencé de réaliser les premières séquences d'un film ornithologique (Hirondelles de rivage et Etourneaux).

La station enfin a exercé une utile activité dans le domaine de l'ornithologie appliquée et de la protection des oiseaux.

Centre suisse d'Adiopodoumé.

Plusieurs transformations ont été effectuées au Centre, en particulier à la maison du directeur qui a été agrandie. L'installation de climatisation a été révisée et fonctionne de façon satisfaisante. Une nouvelle voiture a été acquise, grâce à un don et à une subvention de la S.H.S.N. Le financement annuel du Centre est dorénavant assuré grâce aux subsides des cantons universitaires.

A la fin de l'année, le Centre a reçu une quinzaine de naturalistes, la plupart professeurs dans nos universités. Les participants à cette mission scientifique, parmi lesquels le président de la S.H.S.N., le professeur J. de Beaumont, ont vivement apprécié la parfaite organisation de ce voyage et l'amabilité de l'accueil qu'ils ont reçu, tant de notre excellent vice-consul à Abidjan, M. Wimmer que des autorités et des collègues français de la Côte d'Ivoire et que du directeur du Centre et M^{me} Huggel. On me permettra, à titre de participant à ce voyage passionnant de remer-

cier cordialement les initiateurs et organisateurs qui conduisaient le groupe, les professeurs R. Geigy et J. G. Baer.

Cinq publications ont paru en 1956 et jusqu'à ce jour sur des recherches faites au Centre; deux sont l'œuvre du Dr U. Rahm, une du Dr E. Binder; la quatrième, du Dr B. Jobling, est fondée sur du matériel récolté par le Dr V. Aellen; la dernière est due au Dr K. Lindberg, sur du matériel récolté par le Dr U. Rahm.

Stations de Naples et de Roscoff.

A Naples, la table suisse a été occupée, du 6 au 18 février, par le Dr J. Wilhelmi (Bâle) qui a étudié l'effet de produits pharmaceutiques différents sur le développement de l'œuf de l'oursin; du 12 mars au 5 juin par le professeur F. Baltzer (Berne) qui a continué ses études sur le développement d'hybrides d'oursin. Du 13 mars au 23 mai M. et M^{me} Ernst (Zurich) et M^{lle} Buss comme laborantine, ont étudié des Siphonées et des Algues brunes. Du début avril au 31 décembre (et jusqu'en avril 1957) le Dr H. Eymann (Berne-Naples) collaborateur du Dr P. Tardent, a observé la régénération des Hydroides. M^{lle} M. Huber (Bâle) a effectué des analyses histo-chimiques concernant les ferments du cerveau de Seiches (3 septembre au 13 octobre).

A Roscoff, la table suisse a été occupée, du 15 janvier au 31 juillet, par le Dr H. Staiger (à présent La Jolla, Etats-Unis), qui a travaillé sur la variation chromosomale et morphologique de *Purpura lapillus*. Le professeur A.H. Guénin (Lausanne) a organisé à Roscoff, avec l'aide de la direction de la Station, pendant deux semaines un cours marin avec sept étudiants de l'Institut zoologique de Lausanne. Trois étudiants suisses ont participé aux cours organisés, comme chaque année, par la Sorbonne: le Dr Frey (professeur du Gymnase à Winterthur), le Dr V. Kiortsis (chef de travaux à l'Institut de zoologie, Genève) et J.-C. Bouvier (étudiant à l'Institut de zoologie, Genève).

Ce rapport est accepté après qu'il ait été rappelé que le doyen de notre société est notre collègue Dr L. Zehntner de Reigoldswil, à qui nous adressons une pensée cordiale.

2. RAPPORT DU TRÉSORIER

Notre trésorier, M. Guénin présente les comptes, le bilan et son projet de budget:

Bilan au 31 décembre 1956

<i>Actif</i>			<i>Passif</i>
Caisse	22,75	Pour balance .	3.850,10
Chèques postaux . . .	525,07		
Livrets de dépôts . .	3.302,28		
	<u>3.850,10</u>		<u>3.850,10</u>

Compte de profits et pertes 1956

Recettes

Cotisations	1.830,—
Subside fédéral	4.500,—
Intérêts	62,63
	<u>6.392,63</u>

Dépenses

Subside fédéral à <i>Revue suisse de Zoologie</i> . . .	4.500,—
Subside S.S.Z. à <i>Revue suisse de Zoologie</i>	600,—
Subside S.S.Z. à <i>Vogelwarte, Sempach</i>	200,—
Frais généraux et tirage à part de la <i>Revue suisse de Zoologie</i>	797,95
Solde pour balance	294,68
	<u>6.392,63</u>

Le trésorier: H.-A. GUÉNIN.

3. RAPPORT DES VÉRIFICATEURS DES COMPTES

Les soussignés ont procédé ce jour à la vérification des comptes de la Société suisse de Zoologie pour l'année 1956. Après un pointage des pièces justificatives, ils ont reconnu les comptes exacts et invitent l'Assemblée générale à en donner décharge au trésorier, avec vifs remerciements pour la gestion.

Les vérificateurs:

J. AUBERT.

R. BOVEY.

Lausanne, le 28 janvier 1957.

4. SUBVENTIONS

L'assemblée décide de maintenir aux mêmes montants les subventions qu'elle accorde à la *Revue suisse de Zoologie* et à la Station ornithologique de Sempach. Sur la proposition du président, elle décide d'accorder en outre un subside de 200 francs au Centre suisse d'Adiopodoumé, en prélevant la somme nécessaire sur le bénéfice de l'exercice écoulé.

5. PROPOSITIONS DE BUDGET POUR 1957

Recettes

Cotisations	1.740,—
Intérêts	60,—
	<hr/> 1.800,—

Dépenses

Subside S.S.Z. à <i>Revue Suisse de Zoologie</i>	600,—
Subside S.S.Z. à <i>Vogelwarte</i> , Sempach	200,—
Tirage à part du fascicule « séance » de la <i>Revue</i> .	600,—
Frais généraux	400,—
	<hr/> 1.800,—

Le budget proposé a été établi en supposant le maintien de la cotisation annuelle à 14 francs pour les membres ordinaires, à 7 francs pour les membres affiliés à la S.H.S.N. et pour les « Jeunes Zoologistes ».

Ce budget est accepté sans opposition.

6. CANDIDATURES

Les candidatures de onze nouveaux membres sont acceptées, ce sont: M. Etienne Charollais, Genève; M^{lle} Anne Droin, Genève; M. Hans Lüönd, Zurich; M^{lle} Claire-Lise Mermod, Genève; M. Jacques Naef, Genève; M. Jean-Luc Perret, Sangmelima, Caméroun; M^{me} Rosenbusch-Weihs, Lausanne; M. Hannes Sägersser, Berne; M. Gédéon Sarasin, Bâle; M. Marco Schnitter, Zurich et M. Heinrich Urspring, Zurich.

7. RADIATIONS

Les cas de membres passibles de radiation sont examinés individuellement.

8. ELECTION DU COMITÉ POUR L'EXERCICE 1957-58

Le nouveau comité élu par acclamation se compose de:

MM. le professeur E. Hadorn, président;
le professeur H. Steiner, vice-président;
le Dr H. Burla, secrétaire.

9. ELECTION DU TRÉSORIER

M. A. Guénin décline une réélection; le président lui exprime au nom de la société la reconnaissance de tous pour le dévouement dont il a témoigné pendant cinq ans déjà en assumant cette charge. M. E. Binder, qui accepte de lui succéder, est nommé pour le remplacer.

10. VÉRIFICATEURS ET SUPPLÉANTS

MM. J. Aubert et R. Bovey sont maintenus dans la fonction qu'ils exercent de bonne grâce; MM. H. Gisin et G. de Haller sont désignés comme suppléants.

11. COMMUNICATIONS

Il est signalé plusieurs manifestations scientifiques à l'attention des membres:

Le symposium sur la spécificité parasitaire qui se tient à Neuchâtel du 15 au 18 avril 1957, sous la présidence du professeur E. Mayr (Harvard).

Un symposium de neuro-endocrinologie, signalé par le professeur K. Ponse qui se tiendra à Genève du 27 au 29 mai.

Les Congrès d'ornithologie et de zoologie qui auront lieu en 1958, le premier à Helsinki, le second à Londres.

SÉANCES SCIENTIFIQUES

Samedi 13 avril à 14 heures

COMMUNICATIONS:

1. WAGNER, Olga (Bâle): Spermatogenese und Bildung entwicklungsfähiger Eier bei *Ornithodoros moubata*.

2. AESCHLIMANN, André (Bâle): Développement embryonnaire d'*Ornithodoros moubata*.
3. RAHM, U. (Bâle): Wichtige Faktoren bei der Attraktion von Stechmücken durch den Menschen.
4. WEBER, Rudolf (Berne): Die Kathepsinaktivität im Schwanz der *Xenopus*-larve während Wachstum und Metamorphose.
5. BENZ, Georg (Berne): Regionale Verteilung der Kathepsinaktivität im Schwanz von gefütterten und hungernden *Xenopus*-larven.
6. ENGELMANN, F. et M. LÜSCHER (Berne): Hemmung der Eireifung durch Prothoraxdrüsen bei *Leucophaea* (Orthoptera).
7. HADORN, Ernst (Zurich): Über die Bildung der roten Augenpigmente von *Drosophila melanogaster* in Transplantaten.
8. BURLA, H. (Zurich): Biometrischer Vergleich zweier Populationen von *Drosophila obscura*.
9. URSPRUNG, H. (Zurich): Untersuchungen zum Anlagemuster der weiblichen Genitalscheibe von *Drosophila melanogaster* durch UV-Strahlenstich.

Conférence principale:

DIE MÖGLICHEN FORMEN DER ARTENTSTEHUNG par le professeur Ernst MAYR

SUITE DES COMMUNICATIONS:

Dimanche le 14 avril dès 8 heures:

10. WOKER, H. et K. WUHRMANN (Zurich): Die Reaktion der Bachfauna auf Gewässervergiftungen.
11. GUÉNIN, H.-A. (Lausanne): Contribution à l'étude cytologique des scorpions: les chromosomes de *Pandinus imperator* Koch.
12. MISLIN, H. et H. HELFER (Mainz): Erregungsleitung in der Wand der Flughautvene (Chiroptera-Dreivenenpräparat).
13. WACKERNAGEL H. (Bâle): Versuch einer zeitgemässen Zootierernährung.
14. SUTTER, H. (Bâle): Radar-Beobachtungen über den Verlauf des nächtlichen Vogelzuges.

15. DU BOIS, A.-M. (Genève): Altérations provoquées chez le fœtus de cobaye par l'injection d'alloxane à la femelle gravide.
16. ROSENBUSCH, Doris et K. PONSE (Genève): Actions rapides et lointaines de l'hypophysectomie chez le cobaye.
17. LIBERT Odette, Renée DOVAZ et E. PERRET (Genève): Les métabolites de la progestérone (GBS 7) dans le cycle normal et après hypophysectomie du cobaye.
18. CHAROLLAIS, Etienne (Genève): Les métabolites des androgènes (17-cétostéroïdes) au cours du cycle normal et après hypophysectomie du cobaye femelle.

Le samedi soir, après un dîner officiel organisé avec l'appui financier des autorités genevoises, qui étaient représentées, les assistants ont eu le plaisir d'entendre le professeur Matthey commenter avec brio les clichés pris au cours du voyage organisé par le comité du Centre suisse d'Adiopodoumé en Côte d'Ivoire. Le professeur F. Chodat, doyen de la faculté des sciences de l'Université de Genève, assistait à cette réunion.

A la fin du déjeuner qui réunissait le dernier carré des participants à cette assemblée, le professeur Hadorn, nouveau président, eut des paroles cordiales pour les organisateurs et donna rendez-vous pour la prochaine assemblée qui aura lieu à Zurich, en 1958.

Le comité annuel:

E. DOTTRENS, *président*.

K. PONSE, *vice-présidente*.

V. KIORTSIS, *secrétaire*.

LISTE DES MEMBRES
DE LA
SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

mars 1957

Président d'honneur:

BALTZER, F., Prof. Dr., Zoolog. Institut, Sahlistr. 8, Bern.

A. Membre à vie:

*NAEF, R.-M., Blümli matt, Thun.

B. Membres ordinaires:

AELLEN, Villy, Dr., Muséum d'Histoire naturelle, Genève.

¹⁾ AESCHLIMANN, A., cand. phil., Tropeninstitut, Socinstr. 57, Basel.

ALTHER, E., Dr., prof. au Collège, Aigle (Vaud).

*AMMANN, Hans, Dr. Quellenstr. 16, Rheinfelden.

*ANDERS, Georges, Dr., Turnerstr. 39, Zürich 6.

ANDRES, Gert, Dr., Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen
(Deutschland).

AUBERT, J., Dr., Musée zoologique, Lausanne.

*AUBERT, S., Prof., av. Fraisse, 12, Lausanne.

*BADER, C., Naturhistorisches Museum, Basel.

BAER, J. G., Prof. Dr., Institut de Zoologie, Université, Neuchâtel.

BARGETZI, J. P., assistant, Institut de Zoologie, Neuchâtel.

BÄSCHLIN, C., Dr., Seminarlehrer, Aarau.

BAUMANN, F., Prof. Dr., Parkstrasse 56c, Thun.

*BAUMANN, J. A., Prof. Dr., Ecole de Médecine, Genève.

BAUMEISTER, L., Dr., St. Gallerring 87, Basel.

BEAUMONT (DE), J., Prof. Dr., Musée zoologique, Lausanne.

*BENZ, G., Fröhlichstr. 4, Aarau.

*BERNASCONI, Antonio, Dr., Goldbrunnenstr., 81, Zürich 3/55.

BESUCHET, C., Dr., ch. du Grey, 1, Lausanne.

BINDER, E., Dr., Muséum d'Histoire naturelle, Genève.

*BISCHLER, V., Mlle., Dr., 31 quai du Mont-Blanc, Genève.

- BLOCH, J., Prof. Dr., Burgunderstr. 4, Solothurn.
BLOCH-WEIL, S., Frau, Dr., Steinenring 19, Basel.
BLOME, A., Elsässerstr. 44, Basel.
BLUNTSCHLI, H., Prof. Dr., Aebistr. 9, Bern.
*BÖNI-GEIGER, A., Dr., Gymnasiallehrer, In den Klosterreben 15, Basel.
BOPP, Peter, Dr. phil., Glaserbergstr. 82, Basel.
BOVEY, P., Prof. Dr., Entomolog. Institut E.T.H., Zürich 6.
BOVEY, René, Dr., rue de la Gare, 35 *bis*, Nyon.
BRETSCHER, Alfred, Dr. phil., Sekundarlehrer, Grüneckweg 14, Bern.
*BRITSCHGI, H., Heinrich Wirristr. 6, Aarau.
*BRUHIN, Herbert, Dr. phil., Aussere Baselstr. 225, Basel.
*BRUNOLD, E., Frl., Dr. phil., Zoolog. Institut E.T.H., Zürich 6.
*BUCHER Nelly, Frl., Dr. phil., Letzistr. 46, Zürich 6.
BÜCHI, Othmar, Dr., Conservateur du Musée d'hist. nat. Fribourg,
60 Vignettaz, Fribourg.
*BURCKHARDT, Dietrich, Dr. phil., c/o Familie Josti, Zernez.
*BURGDORFER, Willy, Dr. phil., Hamilton (Montana), U.S.A.
*BURLA, Hans, Dr. phil., Zoolog. Institut, Universität, Zürich.
CHAPPUIS, P.-A., Dr., Lab. de zoologie, Faculté des Sciences, Toulouse,
Haute-Garonne, France.
1) *CHAROLLAIS, Etienne, ing. chim., Station de Zoologie expérimentale,
154, route de Malagnou, Genève.
*CHEN, Pei-Shen, P. D. Dr. phil., Zoolog. Institut, Universität, Zürich 6.
*CULLEN-SAGER, Esther, Frau, Dr. phil., Dept. of Zoology and comp.
Anatomy, University, Oxford, England.
CUONY, Jean-Auguste, pharmacien, avenue de la Gare, Fribourg.
*CURRY, H. A., Dr., 620 Sheridan Blvd., Orlando, Fla., U.S.A.
*DANON-GALLAND, Mathilde, M^{me}, Dr., Department of experimental
Biology, Weizmann Institute, Rehovot, Israël.
1) *DEBRUNNER, H., cand. phil., Untererzellung, 5, Lyss.
*DELLA SANTA, Ed., professeur au Collège, Versoix, Genève.
*DETTELBACH, H. R., Dr., Northtroy St. 4724, Chicago 25, Ill., U.S.A.
DOHRN, R., Prof. Dr., Stazione zoologica, Via nazionale, Napoli, Italia.
DOTRENS, E., Dr., Directeur du Muséum d'Histoire naturelle, Genève.
*DOVAZ, Renée, 99 Florissant, Genève.
1) *DROIN, Anne, M^{lle}, lic. ès cs., Institut de Zoologie, Université, Genève.
DU BOIS, A.-M., Mlle., Dr., Laboratoire d'histologie, Ecole de médecine,
Genève.
DUBOIS, G., Dr., Grand'Rue 12, Corcelles, Neuchâtel.
1) *ENGELMANN, F., cand. phil., Zoolog. Institut, Sahlistr. 8, Bern.
1) *ERNST, Eberhard, Socinstr. 57, Basel.
ESCHER, K., Prof. Dr., Hinterbergstr. 68, Zürich 44.
*EYMAN, Hermann, Forrenbergstrasse 13, Senzach.
FAES, H., Dr., anc. directeur Station fédérale essais viticoles, Montagi-
bert, Lausanne.
FANKHAUSER, G., Dr., Dept. of Zoology, Princeton University, Prin-
ceton, N.J., U.S.A.

- FAVRE, J., Dr., Muséum d'Histoire naturelle, Genève.
 FERRIÈRE, Ch., Dr., 57 route de Florissant, Genève.
 *FIEDLER, Walter, Dr., Kulturamt, Rathaus, Graz, Österreich.
 *FISCHBERG, Michael, Dr., Dept. of Zoology, Oxford, England.
 *FLORIN, J., Dr., Wiesentalstr. 6, St. Gallen.
 *FLÜCKIGER, Edward, Dr., Physiolog. Anstalt, Universität, Basel.
 FORCART, L., Dr., Custos, Naturhist. Museum, Augustinergasse, Basel.
 *FREYVOGEL, Dieter, Dr., Lange Gasse, 11, Basel.
 *FRITZ, Walter, Dr., Grenzacherweg 128, Riehen (Basel).
 FRITZ-NIGGLI, Hedi, Frau, P. D. Dr. phil., Belliararain 2, Zürich 38.
 FURRER, Martin, Gymnasiallehrer, Laupen (Bern).
 1) *GACOND, René, stud. phil., 53 Valangines, Neuchâtel.
 GALLÉRA, J., Dr., Institut d'Anatomie, Université, Genève.
 *GANDER, Ralf, Dr. phil., Wudstrasse, Heerbrugg (St. Gallen).
 GASCHEN, H., Dr., Institut de Bactériologie, Policlinique, Lausanne.
 *GEIGER, Wolfgang, Dr., Zoolog. Institut, Sahlstr. 8, Bern.
 GEIGY, R., Prof. Dr., Riehenstr. 394, Basel.
 GERBER, A., Dr., Zur Gempenfluh 64, Basel.
 1) GIHR, Margrit, Frl., cand. phil., Zoolog. Anstalt, Basel.
 *GISI, Julie, Frl., Dr., Dornachstrasse 10, Arlesheim, Basel-Ld.
 GISIN, Hermann, Dr., Muséum d'Histoire naturelle, Genève.
 *GLOOR, H., Prof. Dr., Genetisch Instituut, Leyden (Nederl.).
 1) *GOETSCH-LEMP, M., Frau, Falknerstr. 5, Basel.
 *GÖHRINGER, Rudolf, Dr. phil., St. Jakobstr. 101, Basel.
 *GRABER, Hans, Dr., Schwarzenbachweg 22, Zürich 49.
 1) GROBE, Dorrit, Frl., cand. phil., Zoolog. Anstalt, Basel.
 GUÉNIN, H.-A., Dr., chargé de cours, Institut de Zool., Université, Lausanne.
 GÜNTERT, H., Dr., Obergrundstr. 66, Luzern.
 GUYÉNOT, E., Prof. Dr., Laboratoire de Zoologie, Université, Genève.
 HADORN, E., Prof. Dr., Zoolog. Institut, Universität, Zürich 6.
 *HAEFELFINGER, H. R., Zoolog. Institut, Universität, Basel.
 HALLER (DE), G., Dr., Chambésy (Genève).
 HALLER, P. H., Dr. phil., Sempacherstr. 61, Basel.
 HÄMMERLI-BOVERI, Victoire, Frau, Dr., Ottostr. 20, Chur.
 HANDSCHIN, Ed., Prof. Dr., Missionsstr. 9, Basel.
 HEDIGER, H., Prof. Dr., Ackermannstr. 14, Zürich.
 *HENZEN, W., Gymnasiallehrer, Spitalackerstr. 9, Bern.
 HERBIG-SANDREUTER, A., Frau, Dr., School of tropical medicine, University of Puerto Rico, San Juan, Puerto Rico, U.S.A.
 HERZOG, Peter, Dr., Mittlere Strasse 217, Basel.
 *HODLER, Felix, Dr., Sek.-Lehrer, Bahnhofstr. 12, Gümliigen (Bern).
 HOFFMANN, Lukas, Dr. phil., Tour du Valat, par Le Sambuc, B.d.Rh., France.
 HOFMÄNNER, Barthol., Dr., Kanzlererstrasse, Frauenfeld.
 HOFSTETTER-NARBEL, Marguerite, Mme, Dr., route de Berne 31, Lausanne.

*HUBER, A., Dr., Gymnasiallehrer, Holeeletten 20, Basel.

¹⁾ HUBER, Marianne, Frl., cand. phil., Zoolog. Anstalt, Basel.

HUBER, W., Dr., Naturhistorisches Museum, Bern.

HUGGEL, Hansjörg, Dr., Centre suisse de Recherches scientifiques en Côte d'Ivoire, boîte postale 1303, Abidjan (Adiopodoumé), Côte d'Ivoire, A. O. F.

*INHELDER, E., Dr. phil., Krähbühlstr. 128, Zürich 7/44.

JENNI, Werner, Dr. phil., Gymnasiallehrer, Ottenbergstr. 36, Zürich 49.

KAELIN, J., Prof. Dr., Institut de Zoologie, 24 Pérolles, Fribourg.

KEISER, Fred., Dr., Marschalkenstr. 78, Basel.

KIORTSIS, Vassilios, P.D., Dr., Institut de Zoologie, Université, Genève.

KNOPFLI, W., Dr., Stauffacherstr. 9, Zürich 4.

*KOCH, Joseph, Löbernstr. 17, Zug.

*KOCHER, Cl., Dr., Äuss. Baselstr. 96, Riehen (Basel).

¹⁾ KRAUSS, Carola, Frl., cand. phil., Zoolog. Anstalt, Basel.

*KREBSER, W., Buchhändler, Thun.

KÜENZI, W., Dr., Direktor, Naturhistorisches Museum, Bern.

¹⁾ *KUMMER, H., Zool. Institut, Universität, Zürich.

*LANG, Ernst M., Dr. med. vet., Zoolog. Garten, Basel.

LEHMANN, F. E., Prof. Dr., Kuhnweg 10, Bern.

*LIBERT, Odette, ch. de Fossard 32, Conches (Genève).

*LINDENMANN, Walter, Dr. phil., Kastanienweg 8, Münchenstein (Basel-land).

LOTMAR, Ruth, Frl., Dr., Institut f. physikal. Therapie, Kantonsspital, Zürich 32.

¹⁾ *LÜÖND, Hans, cand. phil., Zoologisches Institut der Universität, Zürich.

LÜSCHER, M., Prof. Dr., Zoolog. Institut, Sahlistr. 8, Bern.

MATTHEY, R., Prof. Dr., Institut de Zoologie, Université, Lausanne.

MENZEL, R., Dr., Vilanstr. 8, Chur.

¹⁾ *MERMOD, Claire-Lise, Mlle, lic. ès sc., Institut de Zoologie, Université, Genève.

MERMÖD, G., Dr., Av. Soret 22, Genève.

MEYER, Frieda, Frl., Dr., Weinigerstr. 27, Dietikon (Zürich).

MEYER-HOLZAPFEL, M., Frau, Prof. Dr., Dalmaziquai 149, Bern.

MICHEL, F., Dr., Göttibach 3, Thun.

MISLIN, Hans, Prof. Dr., Zoolog. Institut, Universität, Mainz (Deutsch-land).

MORGENTHAUER, Hans, Dr. phil., Hiltyst. 5, Bern.

MORGENTHAUER, O., Prof. Dr., Talbrünnliweg 33, Bern-Liebefeld.

*MOSER, Hermann, Dr., Carnegie Institution of Washington, Dept. of Genetics, Cold Spring Harbor, Long Island, N.Y., U.S.A.

¹⁾ *MÜLLER, Heinrich, cand. phil., Redernweg 1, Biel.

MÜLLER, R., Dr., Wabernstr. 16, Bern.

NADIG, Ad., Dr., Lyceum, Zuoz.

¹⁾ *NAEF, Jacques, lic. ès sc., Institut de Zoologie, Université, Genève.

¹⁾ *NEF, W., cand. phil., Fichtenweg 5, Bern.

*NEIDITSCH-HALFF, L. A., Frau, Dr., Beim Litziturm 1, Basel.

NÜESCH, H., P. D. Dr. sc. nat., Zoolog. Anstalt, Universität, Basel.

¹⁾ *PERRET, Jean-Luc; Mission presbytérienne américaine, Foulassi par Sangmelina, Cameroun Français.

*PERRON, Rolf, Dr. phil., Tellstr. 60, Winterthur.

*PERROT, J.-L., Dr., Le Verez, Allaman (Vaud).

PEYER, Bernh., Prof. Dr., Rosenbühlstr. 28, Zürich 44.

*PIQUET, J., Mlle., Dr., 25 boulevard Georges-Favon, Genève.

PLATTNER, W., Dr., Schneebergstr. 4, St. Gallen.

PONSE, Kitty, Mlle., Prof. Dr., Institut de Zoologie expér., 154 route de Malagnou, Genève.

PORTMANN, Ad., Prof. Dr., Zoolog. Anstalt, Universität, Basel.

*PRUVOT-FOL, Mme., Dr., 12 rue de Fontenay, Sceaux, Seine, France.

QUARTIER, Archibald, Inspecteur cantonal de la pêche, Neuchâtel.

RAHM, Urs, Dr. phil., Unterm Schellenberg 45, Riehen (Basel).

REICHENSPERGER, Aug., Prof. Dr., Löwenburgstr., 24, Bad Godesberg a/Rh. Deutschland.

REIFF, M., Dr., Unterm Schellenberg 55, Riehen (Basel).

REINHARDT, H., Dr., Rossbergstr. 30, Zürich 2.

*REY, A., Dr., 2 place du Bourg-de-Four, Genève.

*RICKENBACHER, J., Dr. med., Anatom. Institut, Universität, Zürich 6.

*RICKENMANN, Engelbert, Dr., Brühlgasse 29, St. Gallen.

*ROSENBUSCH-WEIHS, Doris, Mme, Station de Zoologie expérimentale, 154, route de Malagnou, Genève.

ROSIN, S., Prof. Dr., Zoolog. Institut, Sahlistr. 8, Bern.

ROTH, Hermann, Dr., Haldenweg 36, Muri (Bern).

*RÖTHELI, Adolf, Dr., Solothurnstr., Büren a. Aare.

¹⁾ *SÄGESESSER, Hannes, cand. phil., Zoolog. Institut, Sahlistr. 8, Bern.

¹⁾ *SARASIN, Gédéon, Tropeninstitut, Socinstrasse 57, Basel.

*SAUTER, Willi, Dr., Zool. Institut E.T.H., Zürich 6.

SCHAEPPI, Th., Dr., Mühlebachstr. 41, Zürich 7.

SCHAUB, S., Dr., Breisacherstr. 35, Basel.

*SCHENK, R., P. D. Dr. med., Anatom. Institut, Universität, Zürich 6.

SCHIFFERLI, A., Dr. phil., Vogelwarte, Sempach.

SCHINZ, H. R., Prof. Dr., Kurhausstr. 78, Zürich 32.

*SCHLEGEL-OPRECHT, Eva, Frau, Dr. phil., Gloristr. 70, Zürich 44.

*SCHLOETH, Robert, Dr., Hölzlistr. 17, Binningen (Baselland).

SCHMASSMANN, W., Dr., Kant. Wasserwirtsch. Exp., Langhagweg 7, Liestal.

*SCHMID, H., Dr. med., rue du Stand, Bienne.

SCHMID, W., Dr. phil., Kantonsschule, Aarau.

*SCHMIDT-EHRENBURG, L., Frl., Dr., Les Rochettes, Faoug (Vaud).

SCHNEIDER, Fritz, Dr. sc. nat., Eidg. Versuchsanstalt, Wädenswil.

¹⁾ *SCHNITTER, Marco, cand. phil., Zoolog. Institut, Universität, Zürich.

¹⁾ *SCHÖNHOLZER, Lilly, Frl., cand. phil., Susenbergstr. 90, Zürich 7/44.

SCHÖNMANN, W., Dr., Kloosweg 64, Biel.

SCHOPFER, W. H., Prof. Dr., Jubiläumsstr. 57, Bern.

SEILER-NEUENSCHWANDER, J., Prof. Dr., Zoolog. Institut E.T.H., Zürich 6.

*SOBELS, F. H., Dr. phil., Genetisch Instituut der Rijks-Universiteit, Stationstr. 9, Utrecht, Holland.

*STAIGER, Hansrudolf, Dr. phil., Augsterweg 17, Basel.

*STAUFFER, Erwin, Dr., In den Klosterreben 48, Basel.

STEINER-BALTZER, A., Dr., Gymnasiallehrer, Rabbentalstr. 51, Bern.

STEINER, G., Dr., Estación experimental agrícola, Universidad de Puerto-Rico, Rio Piedras, Puerto-Rico.

STEINER, G., Dr., Division of Nematology, Bureau of Plant Industry, Dept. of Agriculture, Washington, D.C., U.S.A.

STEINER, H., Prof. Dr., Heilighüsli 10, Zürich 53.

*STEMMLER-MORATH, Carl, Weiherhofstr. 132, Basel.

¹⁾ *STOHLER, Harro, cand. phil., Margarethenstr. 63, Binningen (Basel-land).

STOHLER, R., Dr., 1584 Milvia St., Berkeley, Calif., U.S.A.

*STOLL, Eva, Frl., Dr., Weinplatz 3, Zürich 1.

STRAUSS, F., Dr. med., Stadtbachstr. 46, Bern.

STUDER, Marcel, 49, Croix-Blanche, Les Verrières.

SUTTER, Ernst, Dr., Naturhist. Museum, Augustinergasse, Basel.

TABAN, Charles, Dr. méd., Dr. ès sc., 5, rue de l'Université, Genève.

*TAILLARD, Willy, Dr. méd., Dr. ès sc., 8 route de Malagnou, Genève.

*TARDENT, P., Dr., Stazione zoologica, Napoli (Italia).

*THÉLIN, Luc, Dr., route de Saint-Georges, 44, Petit-Lancy (Genève).

*TOBLER, Albert, Dr., Bungertweg, Küsnacht (Zürich).

TÖNDURY, G., Prof. Dr., Höhest. 69, Zollikon (Zürich).

*TSCHUMI, Pierre, Dr., Dept. of Anatomy, University, Cambridge (England).

¹⁾ *URSPRUNG, Heinrich, Zoologisches Institut der Universität, Zürich.

VALLETTE, M., Mlle., Dr., 2 rue du Cloître, Genève.

¹⁾ *VOLKART, H. D., cand. phil., Gryphenhübeliweg 41, Bern.

VONWILLER, P., Dr., Salmenweg, Rheinau (Zürich).

*WACKERNAGEL, Hans, Dr., Sonnenweg 2, Basel.

WAGNER, G., Dr., Gymnasiallehrer, Sonnerain 25, Ittingen (Bern).

¹⁾ *WAGNER-JEVSEENKO, Olga, Frau, cand. phil., Bättwilerstr. 3, Basel.

*WALDER, Paul, Dr., Sek.-Lehrer, Richterswil (Zürich).

WEBER, Rudolf, Dr. phil., Zoolog. Institut, Sahlistr. 8, Bern.

WELTI, E., Mme., Dr., chemin des Voirons, Grange-Falquet, Genève.

WERDER, O., Dr., Kirchliweg 8, St. Gallen 10.

WETTSTEIN, E., Prof. Dr., Freiestr. 139, Zürich 32.

WIESMANN, R., Dr., Wilhelm Denzstr. 52, Binningen (Baselland).

WILDHABER, M.-A., Dr. pharm., rue de l'Orangerie, Neuchâtel.

*WIRZ, Käthi, Frl., Dr., Labor. Arago, Banyuls s/Mer, Pyr. orient., France.

¹⁾ *WIZINGER, Hans, stud. phil., Birsigstr. 137, Basel.

*WOKER, Hanspeter, Dr., Bahnweg 18, Küsnacht (Zürich).

*WUTHRICH, M., Mlle., assistante à l'Inspectorat de la Chasse et de la Pêche, Neuchâtel.

ZEHTNER, L., Dr., Reigoldswil (Baselland).

ZESIGER, Fred, Bois Noir, 3, La Chaux-de-Fonds.

ZINKERNAGEL, R., Dr., Sieglinweg 12, Riehen (Basel).

*ZWICKY, Karl, Dr., Fakultet Ilmu Pasti Dan Alam, Djalan Taman-Sari 64, Bandung (Djawa), Indonesia.

Les membres dont le nom est précédé d'un * ne font pas partie de la Société helvétique des Sciences naturelles.

Ceux dont le nom est précédé d'un ¹⁾ bénéficient de la demi-cotisation consentie aux étudiants.

Prière de communiquer les changements d'adresse au trésorier, M. le Dr E. BINDER, Muséum d'Histoire naturelle, Genève.





SMITHSONIAN INSTITUTION LIBRARIES



3 9088 01260 1274